

Makanan ringan ekstrudat





© BSN 2015

Hak cipta dilindungi undang-undang. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh isi dokumen ini dengan cara dan dalam bentuk apapun serta dilarang mendistribusikan dokumen ini baik secara elektronik maupun tercetak tanpa izin tertulis dari BSN

BSN
Email: dokinfo@bsn.go.id
www.bsn.go.id

Diterbitkan di Jakarta

Daftar isi

Daftar isi.....	i
Prakata	ii
1 Ruang lingkup.....	1
2 Acuan normatif.....	1
3 Istilah dan definisi	1
4 Komposisi	1
5 Syarat mutu	2
6 Pengambilan contoh	3
7 Cara uji	3
8 Syarat lulus uji	3
9 Higiene.....	4
10 Pengemasan.....	4
11 Syarat penandaan	4
Lampiran A	5
Cara uji makanan ringan ekstrudat.....	5
Bibliografi.....	36
Tabel 1 – Syarat mutu makanan ringan ekstrudat.....	2

Prakata

Standar Nasional Indonesia (SNI) *Makanan ringan ekstrudat* ini merupakan revisi SNI 01-2886-2000, *Makanan ringan ekstrudat*. Standar ini direvisi dan dirumuskan dengan tujuan sebagai berikut:

1. Mengembangkan standar dengan perkembangan teknologi terutama dalam persyaratan mutu dan cara uji;
2. Mengembangkan standar dengan peraturan-peraturan baru yang berlaku;
3. Melindungi kesehatan dan kepentingan konsumen;
4. Menjamin perdagangan pangan yang jujur dan bertanggung jawab;
5. Mendukung perkembangan dan diversifikasi produk industri makanan ringan.

Perubahan yang terjadi pada standar ini adalah:

1. Penambahan kalimat makanan ringan siap makan yang dibuat dari bahan pangan sumber karbohidrat dan/atau protein pada Istilah dan definisi;
2. Penambahan pasal komposisi;
3. Penambahan kriteria uji yaitu tekstur, kadar garam (dihitung sebagai NaCl), bilangan asam, abu tak larut dalam asam dan penyesuaian nilai pada kriteria uji cemaran logam dan cemaran mikroba sesuai dengan ketentuan yang berlaku pada syarat mutu;
4. Penghilangan kriteria uji yaitu kadar silikat pada syarat mutu
5. Penyesuaian metode uji mengacu pada standar terkini

Standar ini dirumuskan dengan memperhatikan ketentuan pada:

1. Undang-Undang Republik Indonesia Nomor 8 Tahun 1999 tentang Perlindungan Konsumen.
2. Peraturan Pemerintah Republik Indonesia Nomor 28 Tahun 2004 tentang Keamanan, Mutu, dan Gizi Pangan.
3. Undang-Undang Republik Indonesia Nomor 36 Tahun 2009 tentang Kesehatan.
4. Undang-Undang Republik Indonesia Nomor 18 Tahun 2012 tentang Pangan.
5. Undang-Undang Republik Indonesia Nomor 3 Tahun 2014 tentang Perindustrian.
6. Undang-Undang Republik Indonesia Nomor 20 Tahun 2014 tentang Standardisasi dan Penilaian Kesesuaian.
7. Peraturan Pemerintah Republik Indonesia Nomor 69 Tahun 1999 tentang Label dan Iklan Pangan;
8. Peraturan Pemerintah Republik Indonesia Nomor 28 Tahun 2004 tentang Keamanan, Mutu, dan Gizi Pangan.
9. Peraturan Menteri Perindustrian Republik Indonesia Nomor 24/M-IND/PER/2/2010 tentang Pencantuman Logo Tara Pangan dan Kode Daur Ulang pada Kemasan Pangan dari Plastik.
10. Peraturan Menteri Perindustrian Republik Indonesia Nomor 75/M-IND/7/2010 tentang Cara Produksi Pangan Olahan yang Baik (*Good Manufacturing Practices*).
11. Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No. 033 Tahun 2012, tentang Bahan Tambahan Pangan.
12. Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor HK.00.06.52.4011 Tahun 2009 tentang Penetapan Batas Maksimum Cemaran Mikroba dan Kimia dalam Makanan.
13. Surat Keputusan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor HK.00.05.52.4040 Tahun 2006 tentang Kategori Pangan.

Standar ini dirumuskan oleh **Komite Teknis 67-04, Makanan dan Minuman**, yang telah dibahas melalui rapat teknis, dan disepakati dalam rapat konsensus pada tanggal 2 Mei 2014 di Jakarta. Hadir dalam rapat tersebut wakil dari konsumen, produsen, lembaga pengujian, lembaga ilmu pengetahuan dan teknologi, Badan Pengawas Obat dan Makanan, dan instansi terkait lainnya.

Standar ini telah melalui proses jajak pendapat pada tanggal 16 Februari 2015 dengan perpanjangan satu bulan sampai dengan tanggal 14 Mei 2015 dengan hasil akhir RASNI.



Makanan ringan ekstrudat

1 Ruang lingkup

Standar ini menetapkan istilah dan definisi, komposisi, syarat mutu, pengambilan contoh, dan cara uji makanan ringan ekstrudat.

2 Acuan normatif

Acuan berikut merupakan bagian tidak terpisahkan untuk penggunaan standar ini. Untuk acuan bertanggal, hanya edisi yang diacu digunakan. Untuk acuan tidak bertanggal, edisi terakhir dari dokumen acuan (termasuk amandemen) digunakan.

SNI 0428, *Petunjuk pengambilan contoh padatan*.

SNI ISO 6887-1, *Mikrobiologi bahan pangan dan pakan – Penyiapan contoh uji, suspensi awal dan pengenceran desimal untuk pengujian mikrobiologi – Bagian 1: Aturan umum untuk penyiapan suspensi awal dan pengenceran desimal*.

SNI ISO 6887-4, *Mikrobiologi bahan pangan dan pakan – Penyiapan contoh uji, suspensi awal dan pengenceran desimal untuk pengujian mikrobiologi – Bagian 4 : aturan khusus untuk penyiapan produk lain selain susu dan produk susu, daging dan produk daging, dan ikan serta produk perikanan*

SNI ISO 6888-1, *Mikrobiologi bahan pangan dan pakan – Metoda horizontal untuk enumerasi staphylococci koagulasi-positif (Staphylococcus aureus dan spesies lain) – Bagian 1: Teknik menggunakan media Baird Parker Agar*.

SNI ISO 7251, *Mikrobiologi bahan pangan dan pakan – Metode horizontal untuk deteksi dan enumerasi Escherichia coli terduga – Teknik angka paling mungkin (APM)*.

3 Istilah dan definisi

3.1

makanan ringan ekstrudat

makanan ringan siap makan yang dibuat dari bahan pangan sumber karbohidrat dan/atau protein melalui proses ekstrusi dengan atau tanpa penambahan bahan pangan lain dan bahan tambahan pangan yang diizinkan dengan atau tanpa melalui proses penggorengan

4 Komposisi

4.1 Bahan baku

Bahan pangan sumber karbohidrat dan/atau protein dalam bentuk bulir, *grit* dan/atau bubuk atau tepung.

4.2 Bahan pangan lain

Bahan pangan yang sesuai untuk makanan ringan ekstrudat.

4.3 Bahan tambahan pangan

Bahan tambahan pangan yang diizinkan untuk makanan ringan ekstrudat sesuai dengan ketentuan yang berlaku.

5 Syarat mutu

Syarat mutu makanan ringan ekstrudat sesuai Tabel 1 di bawah ini.

Tabel 1 – Syarat mutu makanan ringan ekstrudat

No.	Kriteria uji	Satuan	Persyaratan
1	Keadaan		
1.1	Bau	-	normal
1.2	Rasa	-	normal
1.3	Warna	-	normal
1.4	Tekstur	-	normal
2	Kadar air	fraksi massa, %	maks. 4
3	Kadar lemak		
3.1	Proses penggorengan	fraksi massa, %	maks. 38
3.2	Tanpa proses penggorengan	fraksi massa, %	maks. 30
4	Kadar garam (dihitung sebagai NaCl)	fraksi massa, %	maks. 2,5
5	Bilangan asam	mg KOH/g minyak	maks. 2
6	Bilangan peroksida	mek peroksida/ 1 000 g minyak	maks. 10
7	Kadar abu tidak larut dalam asam	fraksi massa, %	maks. 0,1
8	Cemaran logam		
8.1	Timbal (Pb)	mg/kg	maks. 0,25
8.2	Kadmium (Cd)	mg/kg	maks. 0,2
8.3	Timah (Sn)	mg/kg	maks. 40
8.4	Merkuri (Hg)	mg/kg	maks. 0,03
9	Cemaran Arsen (As)	mg/kg	maks. 0,25
10	Cemaran mikroba		
10.1	Angka Lempeng Total	koloni/g	maks. 1×10^4

Tabel 1 – Syarat mutu makanan ringan ekstrudat (lanjutan)

No.	Kriteria uji	Satuan	Persyaratan
10.2	<i>Escherichia coli</i>	APM/g	< 3
10.3	<i>Salmonella sp</i>	-	negatif/25 g
10.4	<i>Staphylococcus aureus</i>	koloni/g	maks. 1×10^2

6 Pengambilan contoh

Cara pengambilan contoh sesuai dengan SNI 0428.

7 Cara uji

Cara uji untuk makanan ringan ekstrudat seperti di bawah ini:

- a) Persiapan contoh sesuai Lampiran A.1;
- b) Cara uji keadaan sesuai Lampiran A.2;
 - Cara uji bau sesuai Lampiran A.2.1
 - Cara uji rasa sesuai Lampiran A.2.2
 - Cara uji warna sesuai Lampiran A.2.3
 - Cara uji tekstur sesuai Lampiran A.2.4
- c) Cara uji kadar air sesuai Lampiran A.3;
- d) Cara uji kadar lemak sesuai Lampiran A.4;
- e) Cara uji kadar garam sesuai Lampiran A.5;
- f) Cara uji bilangan asam sesuai Lampiran A.6;
- g) Cara uji bilangan peroksida sesuai Lampiran A.7;
- h) Cara uji kadar abu tidak larut asam sesuai Lampiran A.8;
- i) Cara uji cemaran logam sesuai Lampiran A.9;
 - Cara uji timbal (Pb) dan kadmium (Cd) sesuai Lampiran A.9.1
 - Cara uji timah (Sn) sesuai Lampiran A.9.2
 - Cara uji merkuri (Hg) sesuai Lampiran A.9.3
- j) Cara uji cemaran arsen (As) sesuai Lampiran A.10;
- k) Cara uji cemaran mikroba sesuai Lampiran A.11;
 - Persiapan dan homogenisasi contoh sesuai dengan Lampiran A.11.1, SNI ISO 6887-1 dan SNI ISO 6887-4
 - Cara uji Angka Lempeng Total sesuai Lampiran A.11.2
 - Cara uji *E.coli* sesuai SNI ISO 7251
 - Cara uji *Salmonella sp* sesuai lampiran A.11.3
 - Cara uji *Staphylococcus aureus* sesuai SNI ISO 6888-1

8 Syarat lulus uji

Produk dinyatakan lulus uji apabila memenuhi syarat mutu pada Tabel 1.

9 Higiene

Cara memproduksi produk yang higienis termasuk cara penyiapan dan penanganannya sesuai dengan ketentuan yang berlaku.

10 Pengemasan

Produk dikemas dalam wadah yang tertutup rapat, tidak dipengaruhi atau mempengaruhi isi, aman selama penyimpanan dan pengangkutan.

11 Syarat penandaan

Syarat penandaan sesuai dengan ketentuan yang berlaku tentang Label dan Iklan Pangan.



Lampiran A
(normatif)
Cara uji makanan ringan ekstrudat

A.1 Persiapan contoh

Persiapan contoh terdiri atas persiapan contoh untuk uji mikrobiologi, uji keadaan, dan uji kimia. Pengambilan contoh untuk uji mikrobiologi dilakukan pertama, kemudian dilanjutkan dengan pengambilan contoh untuk uji keadaan dan uji kimia.

A.1.1 Persiapan contoh untuk uji mikrobiologi

Buka kemasan contoh makanan ringan ekstrudat dan ambil contoh secara aseptik sebanyak 400 g, kemudian tempatkan dalam wadah steril.

A.1.2 Persiapan contoh untuk uji keadaan

Buka kemasan contoh makanan ringan ekstrudat dan ambil contoh sebanyak 100 g, kemudian tempatkan dalam wadah yang bersih dan kering.

A.1.3 Persiapan contoh untuk uji kimia

Buka kemasan contoh makanan ringan ekstrudat dan ambil contoh sebanyak 400 g, kemudian tempatkan dalam wadah yang bersih dan kering.

A.2 Keadaan

A.2.1 Bau

A.2.1.1 Prinsip

Pengujian contoh dengan indera penciuman yang dilakukan oleh panelis yang terlatih atau kompeten untuk pengujian keadaan.

A.2.1.2 Cara kerja

- a) Ambil contoh uji dan letakkan di atas wadah yang bersih dan kering;
- b) cium contoh uji untuk mengetahui baunya; dan
- c) lakukan pengerjaan minimum oleh 3 orang panelis yang terlatih atau 1 orang tenaga ahli.

A.2.1.3 Cara menyatakan hasil

- a) Jika tidak tercium bau asing, maka hasil dinyatakan "normal"; dan
- b) jika tercium bau asing, maka hasil dinyatakan "tidak normal".

A.2.2 Rasa

A.2.2.1 Prinsip

Pengujian contoh dengan indera pengecap (lidah) yang dilakukan oleh panelis yang terlatih atau kompeten untuk pengujian keadaan.

A.2.2.2 Cara kerja

- a) Ambil contoh uji dan rasakan dengan indera pengecap (lidah); dan
- b) lakukan pengerjaan minimum oleh 3 orang panelis atau 1 orang tenaga ahli.

A.2.2.3 Cara menyatakan hasil

- a) Jika tidak terasa rasa asing, maka hasil dinyatakan "normal"; dan
- b) jika terasa rasa asing, maka hasil dinyatakan "tidak normal".

A.2.3 Warna**A.2.3.1 Prinsip**

Pengujian contoh dengan indera penglihat (mata) yang dilakukan oleh panelis yang terlatih atau kompeten untuk pengujian keadaan.

A.2.3.2 Cara kerja

- a) Ambil contoh uji dan letakkan di atas wadah yang bersih dan kering;
- b) lihat warna contoh uji;
- c) lakukan pengerjaan minimum oleh 3 orang panelis yang terlatih atau 1 orang tenaga ahli.

A.2.3.3 Cara menyatakan hasil

- a) Jika terlihat warna sesuai dengan yang tercantum dalam label maka hasil dinyatakan "normal";
- b) jika terlihat warna lain selain warna yang tercantum dalam label maka hasil dinyatakan "tidak normal".

A.2.4 Tekstur**A.2.4.1 Prinsip**

Pengujian contoh uji dengan cara digigit yang dilakukan oleh panelis yang terlatih atau kompeten untuk pengujian keadaan.

A.2.4.2 Cara kerja

- a) Ambil contoh uji dan letakkan di atas wadah yang bersih dan kering;
- b) gigit contoh uji untuk mengetahui teksturnya; dan
- c) lakukan pengerjaan minimum oleh 3 orang panelis yang terlatih atau 1 orang tenaga ahli.

A.2.4.3 Cara menyatakan hasil

- a) Jika tekstur terasa normal, maka hasil dinyatakan "normal"; dan
Jika tekstur tidak normal, maka disebutkan tekstur yang diamati.

A.3 Kadar air**A.3.1 Prinsip**

Kadar air dihitung berdasarkan bobot yang hilang selama pemanasan dalam oven pada temperatur (103 - 104) °C.

A.3.2 Peralatan

- a) Oven;
- b) neraca analitik dengan ketelitian 0,1 mg;
- c) desikator; dan
- d) cawan aluminium bertutup dengan diameter 50 mm dan tinggi/ kedalaman kurang dari atau sama dengan 40 mm.

A.3.3 Cara kerja

- a) Panaskan cawan aluminium beserta tutupnya dalam oven pada temperatur (103 - 104) °C selama 3 jam, kemudian dinginkan dalam desikator selama 20 menit sampai dengan 30 menit, kemudian timbang dengan neraca analitik (W_0);
- b) masukkan 2 g contoh ke dalam cawan, tutup, dan timbang (W_1);
- c) panaskan cawan yang berisi contoh tersebut dalam keadaan terbuka dengan meletakkan tutup cawan disamping cawan di dalam oven pada temperatur (103 - 104) °C selama 3 jam setelah temperatur oven (103 - 104) °C;
- d) tutup cawan ketika masih di dalam oven, pindahkan segera ke dalam desikator dan dinginkan selama 20 menit sampai dengan 30 menit, sehingga temperaturnya sama dengan temperatur ruang, kemudian timbang hingga diperoleh bobot konstan (W_2);
- e) lakukan pekerjaan duplo; dan
- f) hitung kadar air dalam contoh.

A.3.4 Perhitungan

$$\text{Kadar air (\%)} = \left(\frac{W_1 - W_2}{W_1 - W_0} \right) \times 100 \%$$

Keterangan:

W_0 adalah bobot cawan kosong dan tutupnya, dinyatakan dalam gram (g);

W_1 adalah bobot cawan, tutupnya dan contoh sebelum dikeringkan, dinyatakan dalam gram (g);

W_2 adalah bobot cawan, tutupnya dan contoh setelah dikeringkan, dinyatakan dalam gram (g).

A.3.5 Ketelitian

Kisaran hasil dua kali ulangan maksimal 5 % dari nilai rata-rata hasil kadar air. Jika kisaran lebih besar dari 5 %, maka uji harus diulang kembali.

A.4 Kadar lemak

A.4.1 Prinsip

Hidrolisis lemak dalam contoh menggunakan HCl kemudian diekstraksi dengan petroleum eter. Ekstrak petroleum eter yang diperoleh kemudian diuapkan sampai kering dan kadar lemak dihitung secara gravimetri.

A.4.2 Peralatan

- a) Alat Soxhlet lengkap;
- b) oven;
- c) neraca analitik dengan ketelitian 0,1 mg;
- d) penangas air;
- e) *thimble* ekstraksi atau selongsong kertas saring ukuran 33 mm x 80 mm;

- f) desikator;
- g) labu lemak 250 mL;
- h) gelas piala 500 mL atau 300 mL;
- i) gelas arloji; dan
- j) kertas saring bebas lemak.

A.4.3 Pereaksi

- a) Larutan asam klorida (HCl) 8 M;
- b) petroleum eter atau heksan;
- c) larutan perak nitrat (AgNO_3) 0,1 M;
larutkan $(17,0 \pm 0,1)$ g (AgNO_3) p.a. di dalam 1 000 mL air suling.
- d) air suling; dan
- e) batu didih.

A.4.4 Cara kerja

A.4.4.1 Hidrolisis

- a) Timbang 4 g sampai dengan 5 g contoh (W) yang telah dipersiapkan dengan teliti ke dalam gelas piala 300 mL atau 500 mL;
- b) tambahkan 45 mL air suling mendidih dengan perlahan sambil diaduk hingga homogen;
- c) tambahkan 55 mL HCl 8 M (30 mL HCl ditambah 20 mL air) dan beberapa butir batu didih;
- d) tutup gelas piala tersebut dengan gelas arloji lalu didihkan perlahan-lahan selama 15 menit;
- e) bilas gelas arloji dengan air suling dan masukkan air pembilas tersebut ke dalam gelas piala;
- f) saring endapan menggunakan kertas saring bebas lemak;
- g) bilas gelas piala 3 kali dengan air suling, lakukan pencucian hingga bebas klor yang dapat ditentukan dengan penambahan 1 tetes sampai dengan 3 tetes AgNO_3 0,1 M pada filtrat, jika tidak terdapat endapan putih (AgCl) maka telah bebas klor; dan
- h) pindahkan kertas saring serta isinya ke dalam *thimble* ekstraksi atau selongsong kertas saring bebas lemak dan keringkan 6 jam pada temperatur 100 °C sampai dengan 101 °C.

A.4.4.2 Ekstraksi

- a) Keringkan labu lemak yang berisi beberapa butir batu didih selama 1 jam;
- b) dinginkan dalam desikator dan timbang (W_0), sambungkan dengan alat ekstraksi *Soxhlet*;
- c) masukkan *thimble* ekstraksi atau selongsong kertas saring ke dalam *Soxhlet* (sebaiknya *thimble* ditopang *glass bead*), bilas piala yang digunakan untuk hidrolisis dan yang digunakan waktu pengeringan dengan petroleum eter atau heksan sebanyak 3 x 5 mL, tuangkan ke dalam *Soxhlet*, kemudian tuangkan petroleum eter sebanyak 2/3 kapasitas labu di atas penangas;
- d) ekstrak selama 4 jam dengan kecepatan ekstraksi lebih dari 30 kali;
- e) keringkan labu lemak beserta lemak di dalam oven pada temperatur 100 °C sampai dengan 101 °C selama 1,5 jam sampai dengan 2 jam;
- f) dinginkan dalam desikator dan timbang (W_1); dan
- g) ulangi pengeringan sampai perbedaan penimbangan bobot lemak yang dilakukan berturut-turut kurang dari 0,05%.

A.4.5 Perhitungan

$$\text{Kadar lemak (\%)} = \frac{W_1 - W_0}{W} \times 100\%$$

Keterangan:

W adalah bobot contoh, dinyatakan dalam gram (g);

W₀ adalah bobot labu lemak kosong, dinyatakan dalam gram (g);

W₁ adalah bobot labu lemak kosong dan lemak, dinyatakan dalam gram (g).

A.4.6 Ketelitian

Kisaran hasil dua kali ulangan maksimal 5% dari nilai rata-rata hasil lemak. Jika kisaran lebih besar dari 5%, maka uji harus diulang kembali.

A.5 Kadar Garam

A.5.1 Metode Mohr

A.5.1.1 Prinsip

Mereaksikan semua ion Cl⁻ yang terdapat dalam NaCl yang terkandung dalam contoh dengan ion Ag⁺ dari larutan AgNO₃ dengan penunjuk kalium kromat (K₂CrO₄).

A.5.1.2 Peralatan

- Tanur 550 °C;
- penangas air;
- neraca analitik dengan ketelitian 0,1 mg;
- Erlenmeyer*; dan
- buret.

A.5.1.3 Pereaksi

- Perak nitrat, AgNO₃ 0,1 N;
- kalsium asetat, Ca(CH₃COO)₂ 10%;
- asam nitrat (HNO₃) (1 : 3); dan
- indikator kalium kromat, K₂CrO₄ 5%.

A.5.1.4 Cara kerja

- Timbang 2 g contoh ke dalam *Erlenmeyer*;
- tambahkan 10 mL Ca(CH₃COO)₂ 10%;
- keringkan di atas penangas air lalu abukan dalam tanur pada temperatur 550 °C (tidak diperlukan pengabuan sempurna);
- larutkan abu dalam 25 mL HNO₃ (1 : 3);
- tambahkan 1 mL K₂CrO₄ 5% dan titar dengan larutan AgNO₃ 0,1 N sampai terbentuk endapan merah coklat atau merah bata;
- lakukan penetapan blangko.

A.5.1.5 Perhitungan

$$\text{Kadar NaCl\%} = \frac{(V - V_1) \times N \times 58,5}{W}$$

Keterangan:

V adalah volume AgNO_3 0,1 N yang diperlukan pada penitaran contoh, dalam mL;

V₁ adalah volume AgNO_3 0,1 N yang diperlukan pada penitaran blangko, dalam mL;

N adalah normalitas AgNO_3 ;

W adalah bobot contoh dalam mg.

A.5.2 Metode Volhard

A.5.2.1 Prinsip

Mereaksikan semua ion Cl^- yang terdapat dalam NaCl yang terkandung dalam contoh dengan Ag^+ dari larutan AgNO_3 berlebihan. Kelebihan AgNO_3 dititar dengan amonium tiosianat 0,1 N dan tawas feriamonium sebagai indikator.

A.5.2.2 Peralatan

- Tanur 550 °C;
- penangas air;
- neraca analitik dengan ketelitian 0,1 mg;
- Erlenmeyer*; dan
- buret.

A.5.2.3 Pereaksi

- Larutan perak nitrat AgNO_3 0,1 N;
- kalsium asetat $\text{Ca}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ 10%;
- asam nitrat (HNO_3) (1 : 3);
- indikator tawas feriamonium, $\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$; dan
- amonium tiosianat, NH_4SCN 0,1N.

A.5.2.4 Cara kerja

- Timbang 2 g contoh ke dalam *Erlenmeyer*;
- tambahkan 10 mL $\text{Ca}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ 10%;
- keringkan di atas penangas air lalu abukan dalam tanur pada temperatur 550 °C (tidak diperlukan pengabuan sempurna);
- larutkan abu dalam 25 mL HNO_3 (1 : 3);
- tambahkan AgNO_3 0,1 N berlebih untuk mengendapkan semua Cl ;
- panaskan sampai mendidih, lalu dinginkan;
- tambahkan 5 mL indikator $\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$;
- titrasi kelebihan Ag dengan NH_4SCN 0,1N sampai larutan berubah menjadi coklat muda;
- lakukan penetapan blangko.

A.5.2.5 Perhitungan

$$\text{Kadar NaCl}\% = \frac{(V - V_1) \times N \times 58,5}{W} \times 100\%$$

Keterangan:

V adalah volume larutan NH_4SCN yang dipakai untuk penitaran contoh, dalam mL;
 V1 adalah volume larutan NH_4SCN yang dipakai untuk penitaran blangko, dalam mL;
 N adalah normalitas NH_4SCN ;
 W adalah bobot contoh, dalam mg.

A.6 Bilangan asam

A.6.1 Prinsip

Nilai asam minyak sama dengan mg KOH yang diperlukan untuk menetralkan 1 g minyak. Minyak yang diekstraksi dari makanan ringan ekstrudat yang digoreng dilarutkan dalam campuran alkohol eter dan dititrasi dengan larutan standar KOH alkohol.

A.6.2 Peralatan

- Desikator;
- labu ukur 1L;
- neraca analitik dengan ketelitian 0,1 mg;
- titrator;
- rotary evaporator;
- labu Erlenmeyer 200 mL;
- penangas air temperatur dapat dipertahankan 40 °C.

A.6.3 Pereaksi

- Larutan standar kalium hidroksida alkohol: 0,05 mol / L;
 Larutkan 3,5 g kalium hidroksida dalam volume yang sama dari air (bebas CO_2) dan etanol (95 %) tepatkan volume menjadi 1 liter. Setelah tercampur, biarkan larutan selama beberapa hari, jaga larutan bebas CO_2 . Gunakan supernatan setelah dilakukan.
- standardisasi;
 Timbang *amidosulfuric acid* (bahan referensi bersertifikat untuk volumetrik analisis) dan simpan ke dalam desikator (< 2,0 kPa) selama 48 jam. Selanjutnya, timbang dengan teliti 1 sampai 1,25 g ($\pm 0,1$ mg), larutkan dalam air (bebas CO_2), dan encerkan sampai 250 mL. Masukkan 25 mL larutan ke dalam labu Erlenmeyer, tambahkan 2 sampai 3 tetes indikator biru Bromotimol dan titrasi dengan 0,05 mol / L larutan kalium hidroksida alkohol sampai warna larutan berubah menjadi biru muda.
 Hitung faktor molaritas = (g *amidosulfuric acid* × kemurnian × 25) / 1,2136 / mL KOH
- campuran alkohol-eter: volume yang sama etanol (99,5 %) dan eter;
- larutan fenolftalein 1 % dalam alkohol.

A.6.4 Cara kerja

A.6.4.1 Ekstraksi minyak dari makanan ringan ekstrudat

- Timbang 25 g contoh ke dalam labu Erlenmeyer 200 mL;
- hilangkan udara dalam labu Erlenmeyer dengan menambahkan gas N_2 ;

- c) tambahkan 100 mL petroleum eter;
- d) tutup labu dan biarkan selama 2 jam;
- e) taring supernatant menggunakan kertas saring lalu masukkan ke dalam corong pemisah;
- f) tambahkan 50 mL petroleum eter ke endapan lalu saring supernatant dengan kertas saring lalu masukkan kembali ke dalam corong pemisah;
- g) tambahkan 75 mL air ke dalam corong pemisah, lalu kocok dengan baik;
- h) biarkan lapisan memisah dan alirkan lapisan air;
- i) tambah kembali air lalu kocok. Setelah itu alirkan kembali lapisan air seperti butir h;
- j) sesudah didehidrasi dengan Na_2SO_4 , tampung lapisan petroleum eter dan masukkan ke dalam labu evaporator;
- k) uapkan lapisan petroleum eter menggunakan *rotary evaporator* dengan temperatur tidak lebih dari 40 °C;
- l) semprot gas N_2 ke dalam labu evaporator untuk menghilangkan semua petroleum eter.

A.6.4.2 Titrasi

- a) Timbang 1 sampai 2 g minyak hasil ekstraksi dari A.6.4.1 ke dalam labu *Erlenmeyer*;
- b) tambahkan 80 mL campuran alkohol eter dan beberapa tetes larutan fenolftalein;
- c) titrasi dengan 0,05 mol / L KOH alkohol sampai muncul warna merah muda yang dapat dipertahankan selama lebih dari 30 detik (V_1);
- d) lakukan uji blangko hanya menggunakan campuran alkohol eter dan larutan fenolftalein (V_0).

A.6.5 Perhitungan

$$\text{Bilangan asam (mg KOH/g minyak)} = \frac{(V_1 - V_0) \times M \times 2,806}{W}$$

Keterangan:

- V_0 adalah volume KOH-alkohol yang diperlukan dalam penitaran blanko, dinyatakan dalam mililiter (mL);
- V_1 adalah volume KOH-alkohol yang diperlukan dalam penitaran contoh, dinyatakan dalam mililiter (mL);
- M adalah faktor molaritas larutan KOH -alkohol, dinyatakan dalam molaritas (M);
- W adalah bobot contoh yang diuji, dinyatakan dalam gram (g);
- 2,806 adalah bobot setara KOH-alkohol.

A.6.6 Ketelitian

Kisaran hasil dua kali ulangan maksimal 5 % dari nilai rata-rata hasil bilangan asam. Jika kisaran lebih besar dari 5 %, maka uji harus diulang kembali.

A.7 Bilangan Peroksida

A.7.1 Prinsip

Kalium iodida yang ditambahkan berlebih ke dalam contoh akan bereaksi dengan peroksida yang ada pada lemak atau minyak. Banyaknya iod yang dibebaskan dititrasi dengan larutan standar tiosulfat menggunakan indikator kanji.

A.7.2 Peralatan

- a) Neraca analitik dengan ketelitian minimal 0,1 mg;
- b) *Erlenmeyer* 250 mL bertutup asah;

- c) pipet gondok 25 ml;
- d) labu takar 100 ml, dan
- e) pipet volume 1 ml.

A.7.3 Pereaksi

- a) Larutan asam asetat-Isoktan;
buat campuran asam asetat glasial dan isoktan 3:2 (v/v).
- b) Larutan kalium iodida jenuh;
larutkan kalium iodida p.a dalam air suling yang baru mendidih hingga kondisi jenuh (adanya kristal KI yang tidak larut). Larutan ini harus disiapkan setiap kali akan melakukan pengujian.
- c) Larutan standar natrium tiosulfat 0,1 N;
timbang 24,9 gram natrium tiosulfat kemudian larutkan dengan air suling bebas CO₂ dalam gelas piala. Masukkan ke dalam labu ukur 1 L kemudian tera dan impitkan, tetapkan normalitas larutan tersebut.
- d) Penetapan larutan standar natrium tiosulfat 0,1 N;
- Timbang 0,05 sampai dengan 0,1 gram kalium iodat (KIO₃) kering, larutkan ke dalam *Erlenmeyer* 250 mL dengan air suling sebanyak 50 mL, tambahkan 10 mL kalium iodida 20 % dan 2,5 mL HCl 4 N, iod yang dibebaskan dititar dengan natrium tiosulfat 0,1 N yang akan distandardisasi sampai larutan berwarna kuning, tambahkan 2 mL sampai dengan 3 mL larutan kanji 1% dan titrasi dilanjutkan sampai warna biru hilang. Kerjakan duplo.

Hitung normalitas natrium tiosulfat sampai 4 desimal dengan menggunakan rumus :

$$N \text{ (grek/l)} = \frac{W}{V \times Eq}$$

Keterangan:

- N adalah normalitas natrium tiosulfat, dinyatakan dalam gram ekuivalen per liter (gram ek/L);
- W adalah bobot kalium iodat, dinyatakan dalam miligram (mg);
- V adalah volume larutan natrium tiosulfat yang digunakan untuk titrasi, dinyatakan dalam mililiter (mL);
- Eq adalah berat ekuivalen dari kalium iodat;

- Timbang 0,16 sampai dengan 0,22 g kalium dikromat (K₂Cr₂O₇) yang sudah dihaluskan dan dikeringkan (pada temperatur 110 °C) ke dalam *Erlenmeyer* 500 mL, dan larutkan dengan 25 mL air suling. Tambahkan 5 mL HCl pekat dan 20 mL larutan kalium iodida jenuh kemudian diaduk. Titar dengan natrium tiosulfat 0,1 N yang akan distandardisasi sampai warna kuning larutan hampir hilang. Tambahkan 1 mL sampai dengan 2 mL larutan kanji 1 % dan titrasi dilanjutkan sampai warna biru hilang. Kerjakan duplo.

$$N = \frac{20,394 \times W}{V}$$

Keterangan:

- N adalah konsentrasi natrium tiosulfat, dinyatakan dalam normalitas (N);
- W adalah bobot kalium dikromat, dinyatakan dalam miligram (mg);
- V adalah volume larutan natrium tiosulfat yang digunakan untuk titrasi, dinyatakan dalam mililiter (mL);
- 20,394 adalah konstanta.

- Apabila perbedaan hasil diantara dua penetapan lebih dari 0,000 4 maka lakukan triplo.

- e) larutan standar natrium tiosulfat 0,01 N;
lakukan pengenceran larutan standar natrium tiosulfat 0,1 N untuk mendapatkan konsentrasi 0,01 N.
- f) indikator larutan kanji 1 %;
1 g serbuk kanji dididihkan dengan 100 mL air suling dalam gelas piala.
- g) *Sodium dodecyl sulfate* (SDS).
Buat larutan SDS 10% dengan melarutkan 10 g SDS dalam 100 mL air.

A.7.4 Cara kerja

A.7.4.1 Ekstraksi minyak dari makanan ringan ekstrudat

- a) Timbang 25 g contoh ke dalam labu *Erlenmeyer* 200 mL;
- b) hilangkan udara dalam labu *Erlenmeyer* dengan menambahkan gas N₂;
- c) tambahkan 100 ml petroleum eter;
- d) tutup labu dan biarkan selama 2 jam;
- e) saring supernatant menggunakan kertas saring lalu masukkan ke dalam corong pemisah;
- f) tambahkan 50 ml petroleum eter ke endapan lalu saring supernatant dengan kertas saring lalu masukkan kembali ke dalam corong pemisah;
- g) tambahkan 75 ml air ke dalam corong pemisah, lalu kocok dengan baik ;
- h) biarkan lapisan memisah dan alirkan lapisan air;
- i) tambah kembali air lalu kocok. Setelah itu alirkan kembali lapisan air seperti butir h);
- j) sesudah didehidrasi dengan Na₂SO₄, tampung lapisan petroleum eter dan masukkan ke dalam labu evaporator;
- k) uapkan lapisan petroleum eter menggunakan *rotary evaporator* dengan temperatur tidak lebih dari 40 °C;
- l) semprot gas N₂ ke dalam labu evaporator untuk menghilangkan semua petroleum eter.

A.7.4.2 Titrasi

- a) Timbang dengan teliti $5 \pm 0,05$ g minyak hasil ekstraksi (W) yang diperoleh dari A.7.4.1 ke dalam *Erlenmeyer* bertutup asah 250 mL yang kering;
- b) tambahkan 50 ml larutan asam asetat glasial-isooktan, tutup *Erlenmeyer* dan aduk hingga larutan homogen;
- c) tambahkan 0,5 ml larutan kalium iodida jenuh dengan menggunakan pipet ukur, kemudian kocok selama 1 menit;
- d) tambahkan 30 mL air suling kemudian tutup *Erlenmeyer* dengan segera. Kocok dan titrasi dengan larutan natrium tiosulfat 0,1 N hingga warna kuning hampir hilang, kemudian tambahkan 0,5 mL SDS 10% , kemudian tambahkan indikator kanji 0,5 mL dan lanjutkan penitaran, kocok kuat untuk melepaskan semua iod dari lapisan pelarut hingga warna biru hilang;
- e) lakukan penetapan duplo;
- f) lakukan penetapan blanko; dan
- g) hitung bilangan peroksida dalam contoh.

A.7.5 Perhitungan

Bilangan peroksida dinyatakan sebagai milliekivalen peroksida per 1000 gr contoh yang dihitung menggunakan rumus :

$$\text{Bilangan peroksida (mek peroksida/ 1000 gr contoh)} = \frac{1000 \times N \times (V_0 - V_1)}{W}$$

Keterangan:

- N adalah normalitas larutan standar natrium tiosulfat 0,01 N, dinyatakan dalam normalitas, (N);
 V₀ adalah volume larutan natrium tiosulfat 0,1 N yang diperlukan pada penitrasi contoh, dinyatakan dalam mililiter (mL);
 V₁ adalah volume larutan natrium tiosulfat 0,1 N yang diperlukan pada penitrasi blanko, dinyatakan dalam mililiter (mL);
 W adalah kadar lemak dalam contoh, dinyatakan dalam gram (g).

A.8 Abu tidak larut dalam asam**A.8.1 Prinsip**

Bagian abu yang tidak larut dalam asam.

A.8.2 Peralatan

- a) Tanur dengan ketelitian 1 °C;
- b) Pemanas listrik;
- c) Neraca analitik dengan ketelitian 0,1 mg;
- d) Desikator yang berisi desikan;
- e) Cawan porselen/kuarsa volume 30 ml hingga 50 ml;
- f) Penangas air;
- g) Kertas saring tak berabu (Whatman No. 40 atau yang setara).

A.8.3 Pereaksi

- a) Larutan asam klorida, HCl pekat;

A.8.4 Cara kerja

- a) Panaskan cawan dalam tanur pada temperatur (550 ± 5) °C selama kurang lebih satu jam dan dinginkan dalam desikator sehingga temperaturnya sama dengan temperatur ruang kemudian timbang dengan neraca analitik (W₀);
- a) masukkan 3 g sampai dengan 5 g contoh ke dalam cawan dan timbang (W₁);
- b) tempatkan cawan yang berisi contoh tersebut pada pemanas listrik hingga menjadi arang, kemudian tempatkan dalam tanur pada temperatur (550 ± 5) °C sampai terbentuk abu berwarna putih;
- c) larutkan abu dengan menambahkan 5 mL HCl pekat;
- d) panaskan sampai mendidih, lalu uapkan campuran sampai kering di atas penangas air;
- e) lanjutkan pemanasan residu yang diperoleh pada butir (d) di atas penangas air selama 30 menit;
- f) tambahkan 5 mL HCl pekat terhadap residu yang diperoleh pada butir (e) dan panaskan sampai mendidih. Lalu tambahkan 20 mL air suling dan panaskan;
- g) saring larutan dengan kertas saring tak berabu (Whatman No. 40 atau yang setara) dan cuci dengan 150 mL air suling panas sampai bebas klorida;
- h) masukkan kertas saring ke dalam cawan porselen (platina) yang telah diketahui bobotnya keringkan dalam tanur (550 ± 5) °C sampai terbentuk abu berwarna putih;
- i) pindahkan segera ke dalam desikator sehingga temperaturnya sama dengan temperatur ruang kemudian timbang (W₂), Penimbangan diulangi sampai bobot tetap.

A.8.5 Perhitungan

$$\text{Kadar abu tidak larut dalam asam (\%)} = \frac{(W_2 - W_0)}{W_1 - W_0} \times 100\%$$

Keterangan:

W_0 adalah bobot cawan kosong, dalam g;

W_1 adalah bobot cawan + contoh sebelum diabukan ;

W_2 adalah bobot cawan + abu setelah ditambahkan asam, disaring dan dipanaskan.

A.8.6 Ketelitian

Kisaran hasil dua kali ulangan maksimal 5% dari nilai rata-rata hasil serat kasar. Jika kisaran lebih besar dari 5%, maka uji harus diulang kembali.

A.9 Cemarkan logam

A.9.1 Timbal (Pb) dan kadmium (Cd)

A.9.1.1 Prinsip

Destruksi contoh dengan cara pengabuan kering pada temperatur 450 °C yang dilanjutkan dengan pelarutan dalam larutan asam. Logam yang terlarut dihitung menggunakan alat Spektrofotometer Serapan Atom (SSA) dengan panjang gelombang maksimal 228,8 nm untuk Cd dan 283,3 nm untuk Pb.

A.9.1.2 Peralatan

- SSA beserta kelengkapannya (lampu katoda Cd dan Pb) (sebaiknya menggunakan *Flame* atau *grafit furnace*);
- tanur dengan ketelitian 1 °C;
- neraca analitik dengan ketelitian 0,1 mg;
- pemanas listrik;
- penangas air;
- pipet ukur berskala 0,05 mL atau mikro buret;
- labu ukur 1 000 mL, 100 mL, dan 50 mL;
- gelas ukur kapasitas 10 mL;
- gelas piala 250 mL;
- botol polipropilen;
- cawan porselen/platina/kwarsa 50 mL sampai dengan 100 mL; dan
- kertas saring tidak berabu dengan spesifikasi *particle retention liquid* 20 µm sampai dengan 25 µm.

A.9.1.3 Pereaksi

- Asam nitrat, HNO_3 pekat;
- asam klorida, HCl pekat;
- larutan asam nitrat, HNO_3 0,1 N;
encerkan 7 mL HNO_3 pekat dengan air suling dalam labu ukur 1 000 mL dan encerkan sampai tanda garis.
- larutan asam klorida, HCl 6 N;
encerkan 500 mL HCl pekat dengan air suling dalam labu ukur 1 000 mL dan encerkan sampai tanda garis.

- e) larutan baku 1 000 µg/mL Pb;
larutkan 1,000 g Pb dengan 7 mL HNO₃ pekat dalam gelas piala 250 mL dan masukkan ke dalam labu ukur 1 000 mL kemudian encerkan dengan air suling sampai tanda garis. Alternatif lain, bisa digunakan larutan baku Pb 1 000 µg/mL siap pakai.
- f) larutan baku 50 µg/mL Pb; dan
pipet 5,0 mL larutan baku 1 000 µg/mL Pb ke dalam labu ukur 100 mL dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis kemudian kocok. Larutan baku kedua ini memiliki konsentrasi Pb 50 µg/mL.
- g) larutan baku kerja Pb.
pipet ke dalam labu ukur 100 mL masing-masing sebanyak 0 mL, 0,2 mL; 0,5 mL; 1 mL; 2 mL; 3 mL dan 4 mL larutan baku 50 µg/mL kemudian tambahkan 5 mL larutan HNO₃ 1 N atau HCl 6 N, dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis kemudian kocok. Larutan baku kerja ini memiliki konsentrasi 0 µg/mL; 0,1 µg/mL; 0,25 µg/mL; 0,5 µg/mL; 1,0 µg/mL; 1,5 µg/mL dan 2,0 µg/mL Pb.
- h) larutan baku 1 000 µg/mL Cd;
larutkan 1,000 g Cd dengan 7 mL HNO₃ pekat dalam gelas piala 250 mL dan masukkan ke dalam labu ukur 1 000 mL kemudian encerkan dengan air suling sampai tanda garis. Alternatif lain, bisa digunakan larutan baku Cd 1 000 µg/mL siap pakai.
- i) larutan baku 200 µg/mL Cd;
pipet 10 mL larutan baku 1 000 µg/mL Cd ke dalam labu ukur 50 mL kemudian encerkan dengan air suling sampai tanda garis kemudian dikocok. Larutan baku kedua ini memiliki konsentrasi 200 µg/mL Cd.
- j) larutan baku 20 µg/mL Cd;
pipet 10 mL larutan baku 200 µg/mL Cd ke dalam labu ukur 100 mL kemudian encerkan dengan air suling sampai tanda garis kemudian dikocok. Larutan baku ketiga ini memiliki konsentrasi 20 µg/mL Cd.
- k) larutan baku kerja Cd.
pipet ke dalam labu ukur 100 mL masing-masing sebanyak 0 mL, 0,5 mL, 1 mL; 2 mL; 4 mL; 7 mL dan 9 mL larutan baku 20 µg/mL kemudian tambahkan 5 mL larutan HNO₃ 1 N atau HCl 6 N, dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis kemudian kocok. Larutan baku kerja ini memiliki konsentrasi 0 µg/mL; 0,1 µg/mL; 0,2 µg/mL; 0,4 µg/mL; 0,8 µg/mL; 1,4 µg/mL dan 1,8 µg/mL Cd.

A.9.1.4 Cara kerja

- a) Timbang 10 g sampai dengan 20 g contoh dengan teliti dalam cawan porselen/platina/kuarsa (W);
- b) tempatkan cawan berisi contoh uji di atas pemanas listrik dan panaskan secara bertahap sampai contoh uji tidak berasap lagi;
- c) lanjutkan pengabuan dalam tanur pada temperatur (450 ± 5) °C sampai abu berwarna putih, bebas dari karbon;
- d) apabila abu belum bebas dari karbon yang ditandai dengan warna keabu-abuan, basahkan dengan beberapa tetes air dan tambahkan tetes demi tetes HNO₃ pekat kira-kira 0,5 mL sampai dengan 3 mL;
- e) keringkan cawan di atas pemanas listrik dan masukkan kembali ke dalam tanur pada temperatur (450 ± 5) °C kemudian lanjutkan pemanasan sampai abu menjadi putih. Penambahan HNO₃ pekat dapat diulangi apabila abu masih berwarna keabu-abuan;
- f) larutkan abu berwarna putih dalam 5 mL HCl 6 N, sambil dipanaskan di atas pemanas listrik atau penangas air sampai kering, kemudian larutkan dengan HNO₃ 0,1 N dan masukkan ke dalam labu ukur 50 mL kemudian tepatkan hingga tanda garis dengan air suling, jika perlu, saring larutan menggunakan kertas saring ke dalam botol polipropilen;
- g) siapkan larutan blanko dengan penambahan pereaksi dan perlakuan yang sama seperti contoh;

- h) baca absorbans larutan baku kerja dan larutan contoh terhadap blanko menggunakan SSA pada panjang gelombang maksimal sekitar 228,8 nm untuk Cd dan 283,3 nm untuk Pb;
- i) buat kurva kalibrasi antara konsentrasi logam ($\mu\text{g/mL}$) sebagai sumbu X dan absorbans sebagai sumbu Y;
- j) plot hasil pembacaan larutan contoh terhadap kurva kalibrasi (C); dan
- k) hitung kandungan logam dalam contoh.

A.9.1.5 Perhitungan

$$\text{Kandungan logam (mg/kg)} = \frac{C}{W} \times V$$

Keterangan:

- C adalah konsentrasi logam dari kurva kalibrasi, dinyatakan dalam mikrogram per mililiter ($\mu\text{g/mL}$);
- V adalah volume larutan akhir, dinyatakan dalam mililiter (mL); dan
- W adalah bobot contoh, dinyatakan dalam gram (g).

A.9.1.6 Ketelitian

Kisaran *Relative Standard Deviation* (RSD) dari dua kali ulangan maksimal 16 %. Jika RSD lebih besar dari 16 %, maka uji harus diulang kembali.

A.9.2 Timah (Sn)

A.9.2.1 Prinsip

Contoh didekstruksi dengan HNO_3 dan HCl kemudian tambahkan KCl untuk mengurangi gangguan. Sn dibaca menggunakan SSA pada panjang gelombang maksimal 235,5 nm dengan nyala oksidasi $\text{N}_2\text{O}-\text{C}_2\text{H}_2$.

A.9.2.2 Peralatan

- a) SSA beserta kelengkapannya (lampu katoda Sn);
- b) tanur dengan ketelitian 1 °C;
- c) neraca analitik dengan ketelitian 0,1 mg;
- d) pemanas listrik;
- e) penangas air;
- f) labu ukur 1 000 mL, 100 mL dan 50 mL;
- g) pipet ukur berskala 0,1 mL;
- h) *Erlenmeyer* 250 mL;
- i) gelas ukur 50 mL; dan
- j) gelas piala 250 mL.

A.9.2.3 Pereaksi

- a) Larutan kalium klorida, 10 mg/mL K;
larutkan 1,91 g KCl dengan air menjadi 100 mL.
- b) asam nitrat, HNO_3 pekat;
- c) asam klorida, HCl pekat;
- d) larutan baku 1 000 mg/mL Sn; dan
larutkan 1,000 g Sn dengan 200 mL HCl pekat dalam labu ukur 1 000 mL, tambahkan 200 mL air suling, dinginkan pada temperatur ruang dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis.

e) larutan baku kerja Sn.

Pipet 10 mL HCl pekat dan 1,0 mL larutan KCl ke dalam masing-masing labu ukur 100 mL. Tambahkan masing-masing 0 mL; 0,5 mL; 1,0 mL; 1,5 mL; 2,0 mL dan 2,5 mL larutan baku 1000 mg/mL Sn dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis. Larutan baku kerja ini memiliki konsentrasi 0 µg/mL; 5 µg/mL; 10 µg/mL; 15 µg/mL; 20 µg/mL dan 25 µg/mL Sn.

A.9.2.4 Cara kerja

- Timbang contoh 10 g sampai dengan 20 g (W) dengan teliti ke dalam *Erlenmeyer* 250 mL, tambahkan 30 mL HNO₃ pekat dan biarkan 15 menit;
- panaskan perlahan selama 15 menit di dalam lemari asam, hindari terjadinya percikan yang berlebihan;
- lanjutkan pemanasan sehingga sisa volume 3 mL sampai dengan 6 mL atau sampai contoh mulai kering pada bagian bawahnya, hindari terbentuknya arang;
- angkat *Erlenmeyer* dari pemanas listrik, tambahkan 25 mL HCl pekat, dan panaskan sampai selama 15 menit sampai letupan dari uap Cl₂ berhenti;
- tingkatkan pemanasan dan didihkan sehingga sisa volume 10 mL sampai dengan 15 mL;
- tambahkan 40 mL air suling, aduk, dan tuangkan ke dalam labu ukur 100 mL, bilas *Erlenmeyer* tersebut dengan 10 mL air suling (V);
- tambahkan 1,0 mL KCl, dinginkan pada temperatur ruang, tepatkan dengan air suling sampai tanda garis dan saring;
- siapkan larutan blanko dengan penambahan pereaksi dan perlakuan yang sama seperti contoh;
- baca absorbans larutan baku kerja dan larutan contoh terhadap blanko menggunakan SSA pada panjang gelombang maksimal 235,5 nm dengan nyala oksidasi N₂O-C₂H₂;
- buat kurva kalibrasi antara konsentrasi logam (µg/mL) sebagai sumbu X dan absorbans sebagai sumbu Y;
- plot hasil pembacaan larutan contoh terhadap kurva kalibrasi (C);
- lakukan pengerjaan duplo; dan
- hitung kandungan Sn dalam contoh.

A.9.2.5 Perhitungan

$$\text{Kandungan timah (Sn) (mg/kg)} = \frac{C}{W} \times V$$

Keterangan:

C adalah konsentrasi timah (Sn) dari kurva kalibrasi, dinyatakan dalam mikrogram per mililiter (µg/mL);

V adalah volume larutan akhir, dinyatakan dalam mililiter (mL);

W adalah bobot contoh, dinyatakan dalam gram (g).

A.9.2.6 Ketelitian

Kisaran RSD dari dua kali ulangan maksimal 16 %. Jika RSD lebih besar dari 16 %, maka uji harus diulang kembali.

A.9.3 Merkuri (Hg)**A.9.3.1 Prinsip**

Reaksi antara senyawa merkuri dengan NaBH₄ atau SnCl₂ dalam keadaan asam akan membentuk gas atomik Hg. Jumlah Hg yang terbentuk sebanding dengan absorbans Hg yang dibaca menggunakan SSA tanpa nyala pada panjang gelombang maksimal 253,7 nm.

A.9.3.2 Peralatan

- a) SSA yang dilengkapi lampu katoda Hg dan generator uap hidrida (HVG);
- b) *microwave digester*;
- c) neraca analitik dengan ketelitian 0,1 mg;
- d) pemanas listrik;
- e) pendingin terbuat dari borosilikat, diameter 12 mm sampai dengan 18 mm, tinggi 400 mm diisi dengan cincin *Raschig* setinggi 100 mm, dan dilapisi dengan batu didih berdiameter 4 mm di atas cincin setinggi 20 mm;
- f) tabung destruksi;
- g) labu destruksi 250 mL berdasar bulat;
- h) labu ukur 1 000 mL, 500 mL, dan 100 mL;
- i) gelas ukur 25 mL;
- j) gelas piala 500 mL.

A.9.3.3 Bahan dan pereaksi

- a) Larutan asam sulfat, H_2SO_4 9 M;
- b) larutan asam nitrat, HNO_3 7 M;
- c) campuran HNO_3 : HClO_4 (1:1);
- d) hidrogen peroksida, H_2O_2 pekat;
- e) larutan natrium molibdat, $\text{NaMoO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 2 %;
- f) larutan pereduksi;
campurkan 50 mL H_2SO_4 dengan 300 mL air suling dalam gelas piala 500 mL dan dinginkan sampai temperatur ruang kemudian tambahkan 15 g NaCl, 15 g hidroksilamin sulfat, dan 25 g SnCl_2 . Pindahkan ke dalam labu ukur 500 mL dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis.
- g) larutan natrium borohidrida, NaBH_4 ;
larutkan 3 g serbuk NaBH_4 dan 3 g NaOH dengan air suling dalam labu ukur 500 mL.
- h) larutan pengencer;
masukkan 300 mL sampai dengan 500 mL air suling kedalam labu ukur 1 000 mL dan tambahkan 58 mL HNO_3 kemudian 67 tambahkan mL H_2SO_4 . Encerkan dengan air suling sampai tanda garis dan kocok.
- i) larutan baku 1 000 $\mu\text{g/mL}$ Hg;
larutkan 0,1354 g HgCl_2 dengan kira-kira 25 mL air suling dalam gelas piala 250 mL dan masukkan ke dalam labu ukur 100 mL kemudian encerkan dengan air suling sampai tanda garis.
- j) larutan baku 1 $\mu\text{g/mL}$ Hg;
pipet 1 mL larutan baku 1 000 $\mu\text{g/mL}$ Hg ke dalam labu ukur 1 000 mL dan encerkan dengan larutan pengencer sampai tanda garis kemudian kocok. Larutan baku kedua ini memiliki konsentrasi 1 $\mu\text{g/mL}$.
- k) larutan baku kerja Hg; dan
pipet masing-masing 0,25 mL; 0,5 mL; 1 mL; dan 2 mL larutan baku 1 $\mu\text{g/mL}$ ke dalam labu ukur 100 mL terpisah dan encerkan dengan larutan pengencer sampai tanda garis. Larutan baku kerja ini memiliki konsentrasi 0,002 5 $\mu\text{g/mL}$; 0,005 $\mu\text{g/mL}$; 0,01 $\mu\text{g/mL}$; 0,02 $\mu\text{g/mL}$ Hg; dan
- l) batu didih.

A.9.3.4 Cara kerja**A.9.3.4.1 Pengabuan basah**

- a) Timbang 5 g contoh (W) dengan teliti ke dalam labu destruksi dan tambahkan 25 mL H_2SO_4 9 M, 20 mL HNO_3 7 M, 1 mL larutan natrium molibdat 2%, dan 5 butir sampai dengan 6 butir batu didih;
- b) hubungkan labu destruksi dengan pendingin dan panaskan di atas pemanas listrik selama 1 jam. Hentikan pemanasan dan biarkan selama 15 menit;
- c) tambahkan 20 mL campuran HNO_3 : HClO_4 (1:1) melalui pendingin,
- d) hentikan aliran air pada pendingin dan panaskan dengan panas tinggi hingga timbul uap putih. Lanjutkan pemanasan selama 10 menit dan dinginkan;
- e) tambahkan 10 mL air suling melalui pendingin dengan hati-hati sambil labu digoyang-goyangkan;
- f) didihkan lagi selama 10 menit;
- g) matikan pemanas listrik dan cuci pendingin dengan 15 mL air suling sebanyak 3 kali kemudian dinginkan sampai temperatur ruang;
- h) pindahkan larutan destruksi contoh ke dalam labu ukur 100 mL secara kuantitatif dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis (V);
- i) pipet 25 mL larutan di atas ke dalam labu ukur 100 mL dan encerkan dengan larutan pengencer sampai tanda garis;
- j) siapkan larutan blanko dengan penambahan pereaksi dan perlakuan yang sama seperti contoh;
- k) tambahkan larutan pereduksi ke dalam larutan baku kerja Hg, larutan contoh, dan larutan blanko pada alat "HVG";
- l) baca absorbans larutan baku kerja, larutan contoh, dan larutan blanko menggunakan SSA tanpa nyala pada panjang gelombang 253,7 nm;
- m) buat kurva kalibrasi antara konsentrasi logam ($\mu\text{g/mL}$) sebagai sumbu X dan absorbans sebagai sumbu Y;
- n) plot hasil pembacaan larutan contoh terhadap kurva kalibrasi (C);
- o) lakukan pengerjaan duplo; dan
- p) hitung kandungan Hg dalam contoh.

A.9.3.4.2 Destruksi menggunakan *microwave digester* atau destruksi sistem tertutup

- a) Timbang 1 g contoh (m) ke dalam tabung destruksi dan tambahkan 5 mL HNO_3 , 1 mL H_2O_2 kemudian tutup rapat;
- b) masukkan ke dalam *microwave digester* dan kerjakan sesuai dengan petunjuk pemakaian alat;
- c) pindahkan larutan destruksi contoh ke dalam labu ukur 50 mL secara kuantitatif dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis (V);
- d) siapkan larutan blanko dengan penambahan pereaksi dan perlakuan yang sama seperti contoh;
- e) tambahkan larutan pereduksi ke dalam larutan baku kerja, larutan contoh, dan larutan blanko pada alat HVG;
- f) baca absorbans larutan baku kerja, larutan contoh, dan larutan blanko menggunakan SSA tanpa nyala pada panjang gelombang 253,7 nm;
- g) buat kurva kalibrasi antara konsentrasi logam ($\mu\text{g/mL}$) sebagai sumbu X dan absorbans sebagai sumbu Y;
- h) plot hasil pembacaan larutan contoh terhadap kurva kalibrasi (C);
- i) lakukan pengerjaan duplo; dan
- j) hitung kandungan Hg dalam contoh.

A.9.3.5 Perhitungan

$$\text{Kandungan merkuri (Hg) (mg/kg)} = \frac{C}{W} \times V \times fp$$

Keterangan:

- C adalah konsentrasi logam dari kurva kalibrasi, dinyatakan dalam mikrogram per mililiter ($\mu\text{g/mL}$);
 V adalah volume larutan akhir, dinyatakan dalam mililiter (mL);
 W adalah bobot contoh, dinyatakan dalam gram (g);
 fp adalah faktor pengenceran.

A.9.3.6 Ketelitian

Kisaran RSD dari dua kali ulangan maksimal 16 %. Jika RSD lebih besar dari 16 %, maka uji harus diulang kembali.

A.10 Cemarkan Arsen (As)

A.10.1 Prinsip

Contoh didestruksi dengan asam menjadi larutan arsen. Larutan As^{5+} direduksi dengan KI menjadi As^{3+} dan direaksikan dengan NaBH_4 atau SnCl_2 sehingga terbentuk AsH_3 yang kemudian dibaca dengan Spektrofotometer Serapan Atom (SSA) pada panjang gelombang maksimal 193,7 nm.

A.10.2 Peralatan

- SSA yang dilengkapi dengan lampu katoda As dan generator uap hidrida (HVG);
- tanur dengan ketelitian 1°C ;
- microwave digester*;
- neraca analitik dengan ketelitian 0,1 mg;
- pemanas listrik;
- bunsen burner*;
- labu *Kjeldahl* 250 mL;
- labu terbuat dari borosilikat berdasar bulat 50 mL;
- labu ukur 1 000 mL, 500 mL, 100 mL, dan 50 mL;
- gelas ukur 25 mL;
- pipet volumetrik 25 mL;
- pipet ukur berskala 0,05 mL atau mikro buret;
- cawan porselen kapasitas 50 mL; dan
- gelas piala 200 mL.

A.10.3 Pereaksi

- Asam nitrat, HNO_3 pekat;
- asam sulfat, H_2SO_4 pekat;
- asam perklorat, HClO_4 pekat;
- ammonium oksalat, $(\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4$ jenuh;
- hidrogen peroksida, H_2O_2 pekat;
- larutan natrium borohidrida, NaBH_4 ;
 larutkan 3 g NaBH_4 dan 3 g NaOH dengan air suling sampai tanda garis ke dalam labu ukur 500 mL.
- larutan asam klorida, HCl 8 M;

- larutkan 66 mL HCl pekat kedalam labu ukur 100 mL dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis.
- h) larutan timah (II) klorida, $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 10 %;
timbang 50 g $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ke dalam gelas piala 200 mL dan tambahkan 100 mL HCl pekat. Panaskan hingga larutan jernih dan dinginkan kemudian tuangkan ke dalam labu ukur 500 mL dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis.
 - i) larutan kalium iodida, KI 20 %;
timbang 20 g KI ke dalam labu ukur 100 mL dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis (larutan harus dibuat langsung sebelum digunakan).
 - j) larutan $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ 75 mg/mL;
larutkan 3,75 g MgO dengan 30 mL H_2O secara hati-hati, tambahkan 10 mL HNO_3 , dinginkan dan encerkan hingga 50 mL dengan air suling.
 - k) larutan baku 1 000 $\mu\text{g/mL}$ As;
larutkan 1,3203 g As_2O_3 kering dengan sedikit NaOH 20 % dan netralkan dengan HCl atau HNO_3 1:1 (1 bagian asam : 1 bagian air). Masukkan ke dalam labu ukur 1 L dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis.
 - l) larutan baku 100 $\mu\text{g/mL}$ As;
pipet 10 mL larutan baku As 1 000 $\mu\text{g/mL}$ ke dalam labu ukur 100 mL dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis. Larutan baku kedua ini memiliki konsentrasi 100 $\mu\text{g/mL}$ As.
 - m) larutan baku 1 $\mu\text{g/mL}$ As; dan
pipet 1 mL larutan standar arsen 100 mg/L ke dalam labu ukur 100 mL dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis. Larutan baku ketiga ini memiliki konsentrasi 1 $\mu\text{g/mL}$ As.
 - n) larutan baku kerja As.
pipet masing-masing 1,0 mL; 2,0 mL; 3,0 mL; 4,0 mL dan 5,0 mL larutan baku 1 $\mu\text{g/mL}$ As ke dalam labu ukur 100 mL terpisah dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis kemudian kocok. Larutan baku kerja ini memiliki konsentrasi 0,01 $\mu\text{g/mL}$; 0,02 $\mu\text{g/mL}$; 0,03 $\mu\text{g/mL}$; 0,04 $\mu\text{g/mL}$ dan 0,05 $\mu\text{g/mL}$ As.

A.10.4 Cara kerja

A.10.4.1 Pengabuan basah

- a) Timbang 5 g sampai dengan 10 g contoh (m) kedalam labu *Kjeldahl* 250 mL, tambahkan 5 mL sampai dengan 10 mL HNO_3 pekat dan 4 mL sampai dengan 8 mL H_2SO_4 pekat dengan hati-hati;
- b) setelah reaksi selesai, panaskan dan tambahkan HNO_3 pekat sedikit demi sedikit sehingga contoh berwarna coklat atau kehitaman;
- c) tambahkan 2 mL HClO_4 70 % sedikit demi sedikit dan panaskan lagi sehingga larutan menjadi jernih atau berwarna kuning (jika terjadi pengarangan setelah penambahan HClO_4 , tambahkan lagi sedikit HNO_3 pekat);
- d) dinginkan, tambahkan 15 mL H_2O dan 5 mL $(\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4$ jenuh;
- e) panaskan sehingga timbul uap SO_3 di leher labu;
- f) dinginkan, pindahkan secara kuantitatif ke dalam labu ukur 50 mL dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis (V);
- g) pipet 25 mL larutan diatas dan tambahkan 2 mL HCl 8 M, 0,1 mL KI 20 % kemudian kocok dan biarkan minimal 2 menit;
- h) siapkan larutan blanko dengan penambahan pereaksi dan perlakuan yang sama seperti contoh;
- i) tambahkan larutan pereduksi (NaBH_4) ke dalam larutan baku kerja As, larutan contoh, dan larutan blanko pada alat HVG;
- j) baca absorbans larutan baku kerja, larutan contoh, dan larutan blanko menggunakan SSA tanpa nyala pada panjang gelombang 193,7 nm;

- k) buat kurva kalibrasi antara konsentrasi logam ($\mu\text{g/mL}$) sebagai sumbu X dan absorbans sebagai sumbu Y;
- l) plot hasil pembacaan larutan contoh terhadap kurva kalibrasi (C);
- m) lakukan pengerjaan duplo; dan
- n) hitung kandungan As dalam contoh.

A.10.4.2 Destruksi menggunakan *microwave digester* atau destruksi sistem tertutup

- a) Timbang 1 g contoh (W) ke dalam tabung destruksi dan tambahkan 5 mL HNO_3 , 1 mL H_2O_2 kemudian tutup rapat;
- b) masukkan ke dalam *microwave digester* dan kerjakan sesuai dengan petunjuk pemakaian alat;
- c) setelah dingin, pindahkan larutan destruksi ke dalam labu ukur 25 mL secara kuantitatif dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis (V);
- d) pipet 10 mL larutan destruksi ke dalam labu borosilikat berdasar bulat 50 mL, tambahkan 1 mL larutan $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, uapkan di atas pemanas listrik hingga kering dan arangkan. Abukan dalam tanur dengan temperatur 450°C (± 1 jam);
- e) dinginkan, larutkan dengan 2,0 mL HCl 8 M, 0,1 mL KI 20 % dan biarkan minimal 2 menit. Tuangkan larutan tersebut ke dalam tabung contoh pada alat;
- f) siapkan NaBH_4 dan HCl dalam tempat yang sesuai dengan yang ditentukan oleh alat;
- g) tuangkan larutan baku kerja As 0,01 $\mu\text{g/mL}$; 0,02 $\mu\text{g/mL}$; 0,03 $\mu\text{g/mL}$; 0,04 $\mu\text{g/mL}$; 0,05 $\mu\text{g/mL}$ serta blanko ke dalam 6 tabung contoh lainnya. Nyalakan *bunsen burner* serta tombol pengatur aliran pereaksi dan aliran contoh;
- h) baca nilai absorbans tertinggi larutan baku kerja As dan contoh dengan blanko sebagai koreksi;
- i) buat kurva kalibrasi antara konsentrasi As ($\mu\text{g/mL}$) sebagai sumbu X dan absorbans sebagai sumbu Y;
- j) plot hasil pembacaan larutan contoh terhadap kurva kalibrasi (C);
- k) lakukan pengerjaan duplo; dan
- l) hitung kandungan As dalam contoh.

A.10.5 Perhitungan

$$\text{Kandungan arsen (As) (mg/kg)} = \frac{C}{W} \times V \times fp$$

Keterangan:

- C adalah konsentrasi logam dari kurva kalibrasi, dinyatakan dalam mikrogram per mililiter ($\mu\text{g/mL}$);
- V adalah volume larutan akhir, dinyatakan dalam mililiter (mL);
- W adalah bobot contoh, dinyatakan dalam gram (g);
- fp adalah faktor pengenceran.

A.10.6 Ketelitian

Kisaran *Relative Standard Deviation* (RSD) dari dua kali ulangan maksimal 16 %. Jika RSD lebih besar dari 16 %, maka uji harus diulang kembali.

A.11 Cemarkan mikroba

A.11.1 Persiapan dan homogenisasi contoh untuk uji Angka lempeng total

A.11.1.1 Prinsip

Pembebasan sel-sel bakteri yang mungkin terlindung oleh partikel makanan dan untuk menggiatkan kembali sel-sel bakteri yang mungkin viabilitasnya berkurang karena kondisi yang kurang menguntungkan dalam makanan. Persiapan dan homogenisasi contoh bertujuan agar bakteri terdistribusi dengan baik di dalam contoh makanan yang ditetapkan.

A.11.1.2 Peralatan

- Blender peristaltik (*stomacher*) dengan kantong plastik steril atau *homogenizer* berputar (blender) dengan kecepatan tidak tetap antara 8 000 r/min dan 45 000 r/min;
- autoklaf;
- neraca kapasitas 2 000 g dengan ketelitian 0,1 g;
- pemanas listrik;
- labu ukur 1 000 mL, 500 mL, 100 mL, dan 50 mL;
- gelas piala steril;
- Erlenmeyer* steril;
- botol pengencer steril;
- pipet volumetrik steril 10,0 mL dan 1,0 mL, dilengkapi dengan *bulb pipettor*;
- tabung reaksi; dan
- sendok, gunting, dan spatula steril.

A.11.1.3 Larutan pengencer untuk Angka lempeng total

Buffered peptone water (BPW)

- Peptone	10 g
- Natrium klorida	5 g
- Dinatrium hidrogen fosfat	3,5 g
- Kalium dihidrogen fosfat	1,5 g
- Air suling	1 L

Larutkan bahan-bahan di atas menjadi 1 L dengan air suling dan atur pH menjadi 7,0. Masukkan ke dalam botol pengencer. Sterilkan menggunakan autoklaf pada temperatur 121 °C selama 15 menit.

A.11.1.4 Homogenisasi contoh untuk Angka lempeng total

- Timbang 25 g contoh secara aseptik ke dalam botol pengencer yang telah berisi 225 mL larutan pengencer steril sehingga diperoleh pengenceran 1:10; dan
- kocok campuran beberapa kali sehingga homogen.

A.11.2 Angka lempeng total**A.11.2.1 Prinsip**

Pertumbuhan bakteri mesofil aerob setelah contoh diinkubasikan dalam pembenihan yang sesuai selama 72 jam pada temperatur $(30 \pm 1) ^\circ\text{C}$.

A.11.2.2 Peralatan

- Inkubator $(30 \pm 1) ^\circ\text{C}$;
- oven/alat sterilisasi kering;
- autoklaf;
- penangas air bersirkulasi $(45 \pm 1) ^\circ\text{C}$;

- e) alat penghitung koloni;
- f) botol pengencer 160 mL terbuat dari gelas borosilikat, dengan sumbat karet atau tutup ulir plastik;
- g) pipet ukur 1 mL steril dengan skala 0,1 mL dilengkapi *bulb* atau *pipettor*; dan
- h) cawan Petri gelas/plastik (berukuran minimal 15 mm x 90 mm), steril.

A.11.2.3 Pembenihan dan pengencer

- a) Buffered peptone water (BPW)
 - Peptone 10 g
 - Natrium klorida 5 g
 - Dinatrium hidrogen fosfat 3,5 g
 - Kalium dihidrogen fosfat 1,5 g
 - Air suling 1L

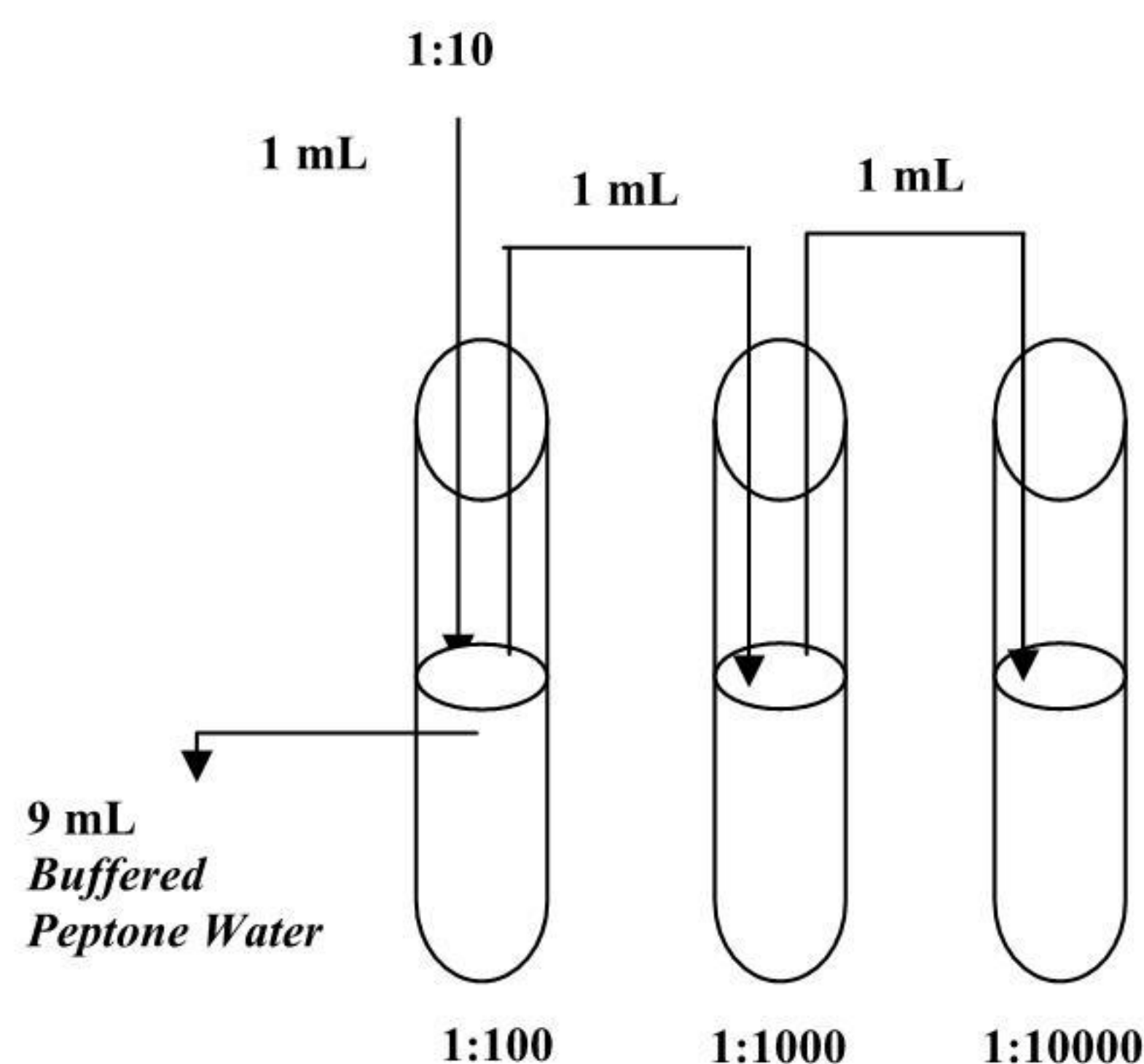
Larutkan bahan-bahan diatas menjadi 1 000 mL dengan air suling dan atur pH menjadi 7,0. Masukkan ke dalam botol pengencer. Sterilkan dengan menggunakan autoklaf pada temperatur 121 °C selama 15 menit.

- b) Plate count agar (PCA)
 - Yeast extract 2,5 g
 - Pancreatic digest of caseine 5 g
 - Glukosa 1 g
 - Agar 15 sampai dengan 20 g
 - Air suling 1 L

Larutkan semua bahan-bahan, atur pH 7,0. Masukkan dalam labu, sterilkan pada 121 °C selama 15 menit.

A.11.2.4 Cara kerja

- a) Pengenceran dilakukan sampai tingkat pengenceran tertentu sesuai keperluan seperti pada Gambar A.1.;
- b) Pipet masing-masing 1 mL dari pengenceran 10^{-1} – 10^{-4} atau sesuai keperluan ke dalam cawan Petri steril secara duplo;
- c) Ke dalam setiap cawan Petri tuangkan sebanyak 12 mL sampai dengan 15 mL media PCA yang telah dicairkan yang bertemperatur (45 ± 1) °C dalam waktu 15 menit dari pengenceran pertama;
- d) Goyangkan cawan Petri dengan hati-hati (putar dan goyangkan ke depan dan ke belakang serta ke kanan dan ke kiri) hingga contoh tercampur rata dengan pembenihan;
- e) Kerjakan pemeriksaan blanko dengan mencampur air pengencer dengan pembenihan untuk setiap contoh yang diperiksa;
- f) Biarkan hingga campuran dalam cawan Petri membeku;
- g) Masukkan semua cawan Petri dengan posisi terbalik ke dalam lemari pengeram dan inkubasikan pada temperatur 30 °C selama 72 jam;
- h) Catat pertumbuhan koloni pada setiap cawan Petri yang mengandung (25 - 250) koloni setelah 72 jam;
- i) Hitung angka lempeng total dalam 1 mL contoh dengan mengalikan jumlah rata-rata koloni pada cawan petri dengan faktor pengenceran yang digunakan.



Gambar A.1 - Tingkat pengenceran menggunakan larutan pengencer *Buffered Peptone Water* (BPW)

A.11.2.5 Perhitungan

Angka lempeng total (koloni/mL) = $n \times F$

Keterangan:

- n adalah rata – rata koloni dari dua cawan Petri dari satu pengenceran, dinyatakan dalam koloni per mL (koloni/mL);
 F adalah faktor pengenceran dari rata-rata koloni yang dipakai.

A.11.2.6 Pernyataan hasil

A.11.2.6.1 Cara menghitung

- Pilih cawan Petri dari satu pengenceran yang menunjukkan jumlah koloni antara 25 koloni sampai dengan 250 koloni setiap cawan Petri. Hitung semua koloni dalam cawan Petri menggunakan alat penghitung koloni. Hitung rata-rata jumlah koloni dan kalikan dengan faktor pengenceran. Nyatakan hasilnya sebagai jumlah bakteri per gram;
- jika salah satu dari dua cawan Petri terdapat jumlah koloni lebih kecil dari 25 koloni atau lebih besar dari 250 koloni, hitung jumlah koloni yang terletak antara 25 koloni sampai dengan 250 koloni dan kalikan dengan faktor pengenceran. Nyatakan hasilnya sebagai jumlah bakteri per gram;

Contoh :

10^{-2}	10^{-3}
120	25
105	20

$$ALT = \frac{120 + 105 + 25}{[(1 \times 2) + (0,1 \times 1) \times 10^{-2}]} = 124,9375$$

- c) jika hasil dari dua pengenceran jumlahnya berturut-turut terletak antara 25 koloni sampai dengan 250 koloni, hitung jumlah koloni dari masing-masing pengenceran koloni per g dengan rumus :

$$ALT = \frac{\sum C}{[(1 \times n_1) + (0,1 \times n_2) \times d]}$$

Keterangan:

- C adalah jumlah koloni dari tiap-tiap cawan Petri;
 n_1 adalah jumlah cawan Petri dari pengenceran pertama yang dihitung;
 n_2 adalah jumlah cawan Petri dari pengenceran kedua;
d adalah pengenceran pertama yang dihitung.

Contoh :

10^{-2}	10^{-3}
131	30
143	25

$$ALT = \frac{131 + 143 + 30 + 25}{[(1 \times 2) + (0,1 \times 2) \times 10^{-2}]} = 164,3357$$

- d) jika jumlah koloni dari masing-masing cawan Petri lebih dari 25 koloni nyatakan sebagai jumlah bakteri perkiraan;
– jika jumlah koloni per cm^2 kurang dari 100 koloni, maka nyatakan hasilnya sebagai jumlah perkiraan : jumlah bakteri dikalikan faktor pengenceran.

Contoh :

10^{-2}	10^{-3}	Jumlah bakteri perkiraan
~	640	$1\,000 \times 640 = 640\,000 (6.4 \times 10^5)$

- jika jumlah koloni per cm^2 lebih dari 100 koloni, maka nyatakan hasilnya:
area x faktor pengenceran x 100 contoh rata-rata jumlah koloni 110 per cm^2

Contoh :

10^{-2}	10^{-3}	area (cm^2)	jumlah bakteri perkiraan
~	7 150	65	$> 65 \times 10^3 \times 100 = > 6\,500\,000 (6.5 \times 10^6)$
~	6 490	59	$> 59 \times 10^3 \times 100 = > 5\,900\,000 (5.9 \times 10^6)$

- e) jika jumlah koloni dari masing-masing koloni yang tumbuh pada cawan Petri kurang dari 25, maka nyatakan jumlah bakteri perkiraan lebih kecil dari 25 koloni dikalikan pengenceran yang terendah; dan
f) menghitung koloni yang merambat;
Perambatan pada koloni ada 3 macam, yaitu :
– perambatan berupa rantai yang tidak terpisah;
– perambatan yang terjadi diantara dasar cawan Petri dan pembenihan; dan
– perambatan yang terjadi pada pinggir atau permukaan pembenihan.
Jika terjadi hanya satu perambatan (seperti rantai) maka koloni dianggap satu. Jika terbentuk lebih dari satu perambatan dan berasal dari sumber yang terpisah-pisah, maka tiap sumber dihitung sebagai satu koloni.
g) jika tidak ada koloni yang tumbuh pada cawan Petri, nyatakan hasil sebagai nol koloni per gram dikalikan dengan faktor pengenceran terendah (<10).

A.11.2.6.2 Cara membulatkan angka

Dalam melaporkan jumlah koloni atau jumlah koloni perkiraan hanya 2 angka penting yang digunakan, yaitu angka pertama dan kedua (dimulai dari kiri):

- a) Jika angka ketiga lebih besar dari 5, maka bulatkan ke atas;
contohnya : 528 dilaporkan sebagai 530 penulisannya $5,3 \times 10^2$
- b) jika angka ketiga kurang dari 5, maka bulatkan kebawah; dan
contohnya : 523 dilaporkan sebagai 520 penulisannya $5,2 \times 10^2$
- c) jika angka ketiga sama dengan 5, maka bulatkan sebagai berikut:
 - bulatkan ke atas jika angka kedua merupakan angka ganjil; dan
contohnya : 575 dilaporkan sebagai 580 penulisannya $5,8 \times 10^2$
 - bulatkan ke bawah jika angka kedua merupakan angka genap.
contohnya : 565 dilaporkan sebagai 560 penulisannya $5,6 \times 10^2$

A.11.3 *Salmonella* sp.

A.11.3.1 Prinsip

Contoh yang diuji ditumbuhkan terlebih dahulu pada media pra pengkayaan dan kemudian ditumbuhkan pada media pengkayaan, dan kemudian dilanjutkan pada media selektif. Selanjutnya contoh dideteksi dengan menumbuhkannya pada media agar selektif. Koloni-koloni yang diduga *Salmonella* sp. pada media selektif kemudian diisolasi dan dilanjutkan dengan ditegaskan melalui uji biokimia dan uji serologi untuk meyakinkan ada atau tidaknya bakteri *Salmonella* sp.

A.11.3.2 Peralatan

- a) Inkubator (37 ± 1) °C;
- b) autoklaf;
- c) oven;
- d) neraca, kapasitas 2 000 g, dengan ketelitian 0,1 g;
- e) neraca, kapasitas 120 g, dengan ketelitian 5 mg;
- f) penangas air, (44 sampai dengan 47) °C;
- g) penangas air, bersirkulasi, *thermostatically-controlled*, ($41,5 \pm 1$) °C;
- h) penangas air bertemperatur (37 ± 1) °C;
- i) pH meter;
- j) blender dan blender jar (botol) steril;
- k) botol bertutup ulir bermulut lebar (500 mL) steril, *Erlenmeyer* 500 mL steril, *beaker*, 250 mL steril, *sterile glass* atau *paper funnels* dengan ukuran sesuai, dan, pilihan lain, kontainer dengan kapasitas sesuai untuk mengakomodasi contoh komposit;
- l) *bent glass* atau batang penyebar plastik steril;
- m) sendok steril, atau peralatan lain untuk memindahkan contoh makanan;
- n) cawan Petri steril, 15 mm x 100 mm, kaca atau plastik;
- o) pipet steril, 1 mL dengan ketelitian 0,01 mL; dan pipet steril 5 mL dan 10 mL dengan skala 0,1 mL;
- p) jarum Ose (diameter ± 3 mm), terbuat dari *nichrome*, *platinum-iridium chromel wire* atau plastik steril;
- q) jarum Ose yang berujung runcing;
- r) tabung reaksi atau tabung biakan steril, 16 mm x 150 mm dan 20 mm x 150 mm; tabung serologikal, 10 mm x 75 mm atau 13 mm x 100 mm;
- s) botol pengencer 500 mL;
- t) rak tabung reaksi atau rak tabung biakan;
- u) *Vortex mixer*;
- v) lampu (untuk mengamati reaksi serologi);

- w) *Fisher* atau *bunsen burner*;
- x) kertas pH (kisaran pH 6 sampai dengan 8) dengan ketelitian maksimal 0,4 unit pH per perubahan warna; dan
- y) gunting, gunting besar, pisau bedah, dan *forceps* steril.

A.11.3.3 Perbenihan dan pereaksi

- a) *Buffered peptone water* (BPW);
- b) Media *Rappaport-Vassiliadis* dengan kedelai (*RVS broth*)
- c) *Muller – Kauffmann Tetrathionate / novobiocin* (MKTTn) *broth*;
- d) *Xylose lysine desoxycholate* (XLD) agar;
- e) *Hektoen enteric* (HE) agar;
- f) *Bismuth sulfite* (BS) agar;
- g) *Triple sugar iron* (TSI) agar;
- h) Urea agar;
- i) *Lysine decarboxylase broth* (LDB);
- j) Larutan *physiological saline*, 0,85 % (steril);
- k) Toluene;
- l) Kertas cakram, β -galaktosidase;
- m) Media *Voges-Proskauer* (VP);
- n) Pereaksi uji *Voges-Proskauer* (VP);
- o) Larutan *creatine*;
- p) 1-*naphtol* yang dilarutkan dengan etanol;
- q) Larutan potasium hidroksida (KOH), 40 %;
- r) *Tryptone* (atau *tryptophane*) *broth* (TB);
- s) Pereaksi Kovacs;
- t) *Semi-solid Nutrient Agar* (NA);
- u) *Salmonella monovalent* dan *polyvalent somatic* (O) *antiserum*;
- v) *Salmonella monovalent* dan *polyvalent flagellar* (H) *antiserum*; dan
- w) *Salmonella anti-Vi* sera.

A.11.3.4 Cara kerja

A.11.3.4.1 Homogenisasi contoh dan pra-pengkayaan

- a) Timbang 25 g contoh ke dalam blender yang steril dan tambahkan 225 mL BPW steril. Kocok selama 2 menit;
- b) inkubasikan pada temperatur $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$ selama (18 ± 2) jam.

A.11.3.4.2 Pengkayaan

- a) Pipet 0,1 mL biakan pra-pengkayaan ke dalam 10 mL media *RVS* dan 1 mL biakan pra-pengkayaan lainnya ke dalam 10 mL MKTTn *broth* dan vorteks masing-masing campuran tersebut; dan
- b) inkubasikan media *RVS* pada temperatur $(41,5 \pm 1) ^\circ\text{C}$ selama (24 ± 3) jam dalam penangas air bersirkulasi dan MKTTn *broth* pada $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$ selama (24 ± 3) jam.

A.11.3.4.3 Penanaman pada pembenihan pilihan/ selektif

- a) Kocok contoh yang telah diinkubasi dan dengan menggunakan jarum Ose diameter 3 mm, goreskan biakan pengkayaan MKTTn *broth* ke dalam cawan petri yang berisi media agar XLD, HE dan BS. Siapkan agar BS sehari sebelum digunakan dan simpan di tempat gelap pada temperatur ruang sampai siap digores;
- b) ulangi cara di atas dari media agar pengkayaan *RVS*;

- c) inkubasikan cawan-cawan media agar BS, HE dan XLD selama (24 ± 3) jam pada temperatur 37°C ;
- d) amati kemungkinan adanya koloni *Salmonella* sp., setelah inkubasi (24 ± 3) jam. Ambil 2 atau lebih koloni *Salmonella* sp. dari masing-masing media agar selektif setelah inkubasi (24 ± 3) jam. Morfologi koloni mempunyai ciri-ciri sebagai berikut:
- XLD : koloni berwarna merah jambu (pink) dengan atau tanpa inti hitam.
Kebanyakan *Salmonella* sp. membentuk koloni besar, inti hitam mengkilap atau mungkin nampak hampir semuanya berwarna hitam;
- HE : koloni berwarna hijau kebiruan sampai biru dengan atau tanpa inti hitam.
Kebanyakan *Salmonella* sp. membentuk koloni besar, inti hitam mengkilat atau mungkin nampak hampir semuanya berwarna hitam.
- BS : koloni berwarna coklat, abu-abu sampai hitam dan kadang-kadang kilap logam.
Jika masa inkubasi bertambah maka warna media disekitar koloni mula-mula coklat kemudian menjadi hitam. Pada beberapa strain koloni berwarna hijau dengan atau tanpa warna gelap disekitar media;
- e) jika tidak ada koloni yang diduga *Salmonella* sp. pada media agar BS setelah inkubasi (24 ± 3) jam, jangan mengambil koloni tapi inkubasi kembali media selama (24 ± 3) jam. Jika tidak ada koloni yang diduga *Salmonella* sp. pada media agar BS setelah inkubasi (48 ± 2) jam, ambil 2 atau lebih koloni tersebut.

A.11.3.5 Uji penegasan

A.11.3.5.1 Seleksi koloni untuk uji penegasan

- a) Ambil sedikitnya 1 koloni tipikal pada masing-masing cawan yang berisi media XLD, HE, dan BS, ambil kembali sedikitnya 4 koloni bila koloni pertama tidak tipikal;
- b) goreskan masing-masing koloni tersebut pada cawan yang berisi NA yang akan ditumbuhkan oleh koloni yang terisolasi dengan baik, kemudian inkubasikan pada temperatur $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ selama (24 ± 3) jam;
- c) gunakan kultur murni untuk uji penegasan biokimia dan serologi selanjutnya.

A.11.3.5.2 Uji penegasan biokimia

- a) Dengan menggunakan jarum Ose berujung runcing steril, ambil secara hati-hati bagian tengah koloni dan inokulasikan ke dalam media TSI agar miring dengan cara menggores agar miring dan menusuk agar tegak;
- b) inkubasi agar miring TSI pada temperatur $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ selama (24 ± 3) jam. Pada TSI, perubahan yang terjadi pada medium adalah sebagai berikut:
- | | |
|------------------------------|----------------------------------|
| - bagian tegak: | |
| kuning | glukosa positif |
| merah atau tak berubah warna | glukosa negatif |
| hitam | pembentukan H_2S |
| gelembung atau retak | pembentukan gas dari glukosa |
| - permukaan agar miring: | |
| kuning | laktosa dan/atau sukrosa positif |
| merah atau tak berubah warna | laktosa dan sukrosa negatif |
- 90 % kasus tipikal *Salmonella* positif membentuk gelembung gas dan H_2S (warna hitam);
- c) dengan menggunakan jarum Ose berujung runcing steril, ambil secara hati-hati bagian tengah koloni dari A.11.3.5.1 dan inokulasikan ke dalam media Urea agar dengan cara menggores agar miring;
- d) inkubasikan agar miring urea pada temperatur $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ selama (24 ± 3) jam, dan amati setiap interval waktu tertentu. Pada Urea agar, reaksi positif *Salmonella* sp. ditunjukkan dengan reaksi pemecahan urea yang menghasilkan ammonia akan menunjukkan perubahan warna *phenol red* menjadi merah mawar hingga merah muda

dan kemudian akan semakin pekat . Reaksi akan muncul setelah 2 jam sampai dengan 4 jam;

- e) dengan menggunakan jarum Ose steril, inokulasikan koloni dari A.11.3.5.1 ke dalam media LDB, kemudian inkubasikan pada $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$ selama (24 ± 3) jam, reaksi positif *Salmonella* sp. pada LDB ditandai dengan terbentuknya kekeruhan dan warna ungu setelah inkubasi. Warna kuning menunjukkan reaksi negatif;
- f) dengan menggunakan jarum Ose steril, inokulasikan koloni dari A.11.3.5.1 ke dalam tabung yang berisi 0,25 mL larutan *physiological saline* steril;
- g) tambahkan 1 tetes toluene dan kocok tabung. Tempatkan tabung pada penangas air bertemperatur $37 ^\circ\text{C}$ dan diamkan selama 5 menit, kemudian tambahkan 1 lembar kertas cakram β -galaktosidase dan kocok hingga rata;
- h) inkubasikan tabung pada penangas air $37 ^\circ\text{C}$ dan diamkan selama (24 ± 3) jam, amati tabung pada interval waktu tertentu. Reaksi positif *Salmonella* sp. ditunjukkan dengan terbentuknya warna kuning. Reaksi muncul setelah 20 menit;
- i) dengan menggunakan jarum Ose steril, inokulasikan koloni dari A.11.3.5.1 ke dalam tabung steril yang berisi 3 mL media VP, kemudian inkubasikan pada temperatur $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$ selama (24 ± 3) jam;
- j) setelah inkubasi tambahkan dua tetes larutan *creatine*, tiga tetes larutan 1-*naphthol* yang dilarutkan dengan etanol, dan dua tetes larutan KOH 40 %, kemudian kocok setelah penambahan tiap pereaksi tersebut. Reaksi *Salmonella* sp. positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah terang setelah 15 menit;
- k) dengan menggunakan jarum Ose steril, inokulasikan koloni dari A.11.3.5.1 ke dalam tabung steril yang berisi media TB, kemudian inkubasikan pada temperatur $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$ selama (24 ± 3) jam; dan
- l) setelah inkubasi tambahkan 1 mL pereaksi Kovacs. Reaksi *Salmonella* sp. positif ditunjukkan dengan terbentuknya cincin yang berwarna merah, sedangkan pembentukan cincin berwarna kuning menunjukkan reaksi negatif.

A.11.3.5.3 Interpretasi hasil uji biokimia

Interpretasi hasil uji biokimia dapat dilihat pada Tabel A.1

Tabel A.1 – Interpretasi hasil uji biokimia

Uji biokimia	Galur <i>Salmonella</i>									
	<i>S. typhi</i>		<i>S. paratyphi A</i>		<i>S. paratyphi B</i>		<i>S. paratyphi C</i>		Galur lain	
	Reaksi	% ^a	Reaksi	% ^a	Reaksi	% ^b	Reaksi	% ^b	Reaksi	% ^a
TSI asam dari glukosa	+	100	+	100	+		+		+	100
TSI gas dari glukosa	- ^c	0	+	100	+		+		+	92
TSI asam dari laktosa	-	2	-	100	-		-		-	1
TSI asam dari sukrosa	-	0	-	0	-		-		-	1
TSI produksi H ₂ S	+	97	-	10	+		+		+	92
Hidrolisis urea	-	0	-	0	-		-		-	1
<i>Lysine decarboxylation</i>	+	98	-	0	+		+		+	95
Reaksi β -galactosidase	-	0	-	0	-		-		-	2 ^d
Reaksi Voges-Proskauer	-	0	-	0	-		-		-	0
Produksi indol	-	0	-	0	-		-		-	1

CATATAN:

^a Persentase mengindikasikan bahwa tidak semua serotipe *Salmonella* menunjukkan reaksi yang ditunjukkan dengan + atau -. Persentase dapat bervariasi antar serotipe dan dalam serotipe dari *food poisoning serotype* dari lokasi yang berbeda

^b Persentase tidak diketahui dari literatur

^c *Salmonella Typhi* bersifat anaerogenik

^d *Salmonella enterica* spp. *arizonae* memberikan reaksi laktosa positif atau negatif namun selalu menunjukkan reaksi positif pada β -galactosidase.

A.11.3.5.4 Uji penegasan serologi dan serotyping

Deteksi keberadaan antigen O-, Vi-, dan H- *Salmonella* diuji dengan aglutinasi (penggumpalan) dengan sera yang sesuai, dari kultur murni yang diperoleh pada A.11.3.5.1 dan setelah galur auto-aglutinasi dihilangkan.

A.11.3.5.4.1 Penghilangan galur auto-aglutinasi

- Tempatkan 1 tetes larutan *physiological saline* 0,85 % pada gelas objek yang bersih;
- suspensikan sebanyak 1 Ose penuh biakan dari A.11.3.5.1 sampai terbentuk suspensi yang homogen dan keruh;
- goyangkan gelas objek selama 30 detik sampai dengan 60 detik dan amati gelas objek, bila bakteri mengelompok menjadi unit-unit terpisah maka galur tersebut termasuk auto-aglutinasi, dan tidak dilanjutkan untuk pengujian tahap selanjutnya.

A.11.3.5.4.2 Uji antigen O-

- Dengan menggunakan pensil, buat garis empat persegi-panjang berukuran 1 cm x 2 cm di atas kaca atau cawan Petri plastik berukuran 15 mm x 100 mm atau di atas gelas sediaan;
- gunakan koloni yang tidak termasuk galur auto-aglutinasi, tempatkan 1 tetes larutan *physiological saline* 0,85 %;
- tambahkan 1 tetes larutan *saline* pada bagian pertama dan tambahkan 1 tetes antiserum O- ke dalam bagian yang lain;
- campurkan atau homogenkan bagian atas menggunakan jarum Ose yang bersih dan steril selama 1 menit; dan
- klasifikasi uji *antiserum* O- menunjukkan hasil sebagai berikut:
 Positif : terjadi penggumpalan didalam pencampuran uji, pada kontrol *saline* tidak terjadi penggumpalan;
 negatif : tidak terjadi penggumpalan didalam pencampuran uji, dan kontrol *saline*; dan
 non spesifik : terjadi penggumpalan didalam pencampuran uji dan pada kontrol *saline*.

A.11.3.5.4.3 Uji antiserum Vi-

- Dengan menggunakan pensil, buat garis empat persegi-panjang berukuran 1 cm x 2 cm di atas kaca atau cawan Petri plastik berukuran 15 mm x 100 mm atau di atas gelas sediaan;
- gunakan koloni yang tidak termasuk galur auto-aglutinasi, tempatkan 1 tetes larutan *physiological saline* 0,85 %;
- tambahkan 1 tetes suspensi biakan di atas masing-masing bagian empat-persegi panjang yang telah diberi tanda dengan pensil;
- tambahkan 1 tetes larutan *saline* pada bagian pertama dan tambahkan 1 tetes antiserum Vi- ke dalam bagian yang lain;
- campurkan atau homogenkan bagian atas menggunakan jarum Ose yang bersih dan steril selama 1 menit; dan
- klasifikasi uji *antiserum* Vi- menunjukkan hasil sebagai berikut:
 Positif : terjadi penggumpalan didalam pencampuran uji, pada kontrol *saline* tidak terjadi penggumpalan;
 negatif : tidak terjadi penggumpalan didalam pencampuran uji, dan kontrol *saline*; dan
 non spesifik : terjadi penggumpalan didalam pencampuran uji dan pada kontrol *saline*.

A.11.3.5.4.4 Uji antigen H-

- Inokulasikan media NA semi solid dengan koloni murni yang bukan merupakan galur auto-aglutinasi;

- b) inkubasikan media pada temperatur $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$ selama (24 ± 3) jam;
- c) dengan menggunakan pensil, buat garis empat persegi-panjang berukuran 1 cm x 2 cm di atas gelas atau cawan Petri plastik berukuran 15 mm x 100 mm atau di atas gelas sediaan;
- d) emulsikan biakan pada NA semi solid setelah inkubasi dengan 2 mL 0,85 % *saline* menggunakan jarum Ose;
- e) tambahkan 1 tetes suspensi biakan tersebut di atas masing-masing bagian empat-persegi panjang yang telah diberi tanda dengan pensil;
- f) tambahkan 1 tetes larutan *saline* pada bagian pertama dan tambahkan 1 tetes antiserum H- ke dalam bagian yang lain;
- g) campurkan atau homogenkan bagian atas menggunakan jarum Ose yang bersih dan steril selama 1 menit; dan
- h) klasifikasi uji antiserum H- menunjukkan hasil sebagai berikut:
 Positif : terjadi penggumpalan didalam pencampuran uji, pada kontrol *saline* tidak terjadi penggumpalan;
 negatif : tidak terjadi penggumpalan didalam pencampuran uji, dan kontrol *saline*; dan
 non spesifik : terjadi penggumpalan didalam pencampuran uji dan pada kontrol *saline*.

A.11.3.5.5 Interpretasi hasil uji penegasan

Interpretasi hasil uji serologi yang merupakan uji penegasan dapat dilihat pada Tabel A.2.

Tabel A.2 – Interpretasi hasil uji penegasan

Reaksi biokimia	Auto-aglutinasi	Reaksi serologi	Interpretasi
Tipikal	Tidak	Antigen O-, Vi-, atau H-positif	Galur dipertimbangkan sebagai <i>Salmonella</i>
Tipikal	Tidak	Semua reaksi negatif	Kemungkinan adalah <i>Salmonella</i>
Tipikal	Ya	Tidak diuji	
Tidak tipikal	Tidak / Ya	Antigen O-, Vi-, atau H-positif	Bukan <i>Salmonella</i>
Tidak tipikal	Tidak / Ya	Semua reaksi negatif	

A.11.3.6 Pernyataan Hasil

Berdasarkan hasil interpretasi dapat menunjukkan keberadaan *Salmonella* pada contoh uji per 25 g.

Bibliografi

AOAC Official Method 923.05, Lipids in in Flour.

AOAC Official Method 925.11, Ash of Macaroni Products.

AOAC Official Method 935.29, Loss on Drying (Moisture) in Malt.

AOAC Official Method 950.52, Sodium Chloride in Nuts and Nuts Products.

AOAC Official Method 971.21, Mercury in Foods, Atomic Absorption Spectrophotometric Method.

AOAC Official Method 986.15, Arsenic, Cadmium, Lead, Selenium, and Zinc in Human and Pet Foods, Multielement Method.

AOAC Official Method 985.16, Tin in Canned Foods: Atomic Absorption Spectrophotometric Method.

AOAC Official Method 999.11, Lead, Cadmium, Copper, Iron, and Zinc in foods: Absorption Spectrophotometry after Dry Ashing.

AOCS Official Method Ba 5b-68. Acid-Insoluble Ash.

AOCS Official Method Cd 8b-90, revisi 2011, Peroxide Value Acetic Acid-Isooctane Method.

Codex Standard 249. 2006. Codex Standard For Instant Noodles

ISO 4833: 2003, Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs – Horizontal Method for the Enumeration of Microorganisms – Colony- count Technique at 30 °C.

ISO 6579: 2002, Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs – Horizontal Method for the Detection of Salmonella spp.